Über eine Peptidsynthese unter Verwendung von Chloral

Heinz Schäfer

1962

Über eine Peptidsynthese unter Verwendung von Chloral

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

München

vorgelegt

von

Heinz Schäfer

aus

Kempten

Februar 1962

Berichterstatter: 1. Prof. Dr. E. Dane
2. Prof. Dr. R. Huisgen

Tag der mündlichen Prüfung: 14. NOV. 1962

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Organische Chemie der Universität München in der Zeit von März 1957 bis Dezember 1960 auf Anregung und unter Leitung von

Frau Professor Dr. Elisabeth Dane

durchgeführt. Für die Unterstützung und Förderung meiner Arbeit möchte ich Frau Prof. Dr. E. Dane auch an dieser Stelle herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. R. Huisgen schulde ich aufrichtigen Dank für das meinem Studium erwiesene Interesse und Entgegenkommen.

Inhaltsverzeichnis

Seite

Theoretischer Teil 1

Experimenteller Teil 21

Umsetzungen von Aminosäuren mit Chloral zu Oxazolidon-Derivaten

1.1 Dichloral-glycin 21
1.2 O-Methyl-dichloral-glycin 22
1.3 Umsetzung von Glycin-äthylester mit Chloral 23

2.1 Dichloral-(DL)alanin 24
2.2 O-Methyl-dichloral-(DL)alanin 26

3 Dichloral-(L)alanin 26

4 Dichloral-(DL)serin 27

5 Dichloral-(DL)cystein 30

6 Umsetzungen von weiteren Aminosäuren und Aminosäure-Derivaten mit Chloral 30

7 Umsetzung von Fluoral mit Glycin 34

Überführung der Oxazolidon-Derivate in Di- bzw. Tripeptide

8 Umsetzungen von Dichloral-glycin 36
8.1 Formyl-glycyl-glycin-äthylester 36
8.2 Formyl-O-methylchloral-glycyl-glycin-äthylester 38
8.3 a Verseifung des Formyl-glycyl-glycin-äthylesters zum Dipeptid-ester-hydrochlorid 39
8.3 b Verseifung des Formyl-O-methylchloral-glycyl-glycin-äthylesters zum Dipeptid-ester-hydrochlorid 39
8.4 Überführung des Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorids in Glycyl-glycin 39
8.5 Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester 40
8.6 Überführung des Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylesters in Glycyl-glycyl-glycin 41

9 Umsetzungen von Dichloral-(DL)alanin 43

Seite

9.1 Formyl-(DL)alanyl-glycin-äthylester 43
9.2 Formyl-O-methylchloral-(DL)alanyl-glycin-äthylester 44
9.3 Formyl-(DL)alanyl-glycyl-glycin-äthylester 44

10 Umsetzung von Dichloral-(L)alanin 46
10.1 Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylester 46
10.2 Überführung des Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylesters in (L)Alanyl-glycin 46

11 Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin 48
11.1 mit Butylamin 48
11.2 mit Benzylamin 51
11.3 mit Glycin-äthylester 53
11.4- Überführung der erhaltenen Seryl-glycin-Derivate
11.6 in Seryl-glycin-hydrochlorid 57

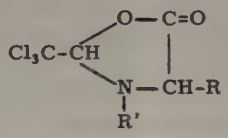
IR-Tabellen 18

Literaturverzeichnis 63

I. Theoretischer Teil

Von Beobachtungen an der Brenztraubensäure ausgehend, hat R. HEISS (1) untersucht, ob Kondensationsprodukte aus Aminosäuren und Chloral sich zu Peptidsynthesen heranziehen lassen.

Er fand, daß einfache Aminosäuren mit Chloral zu Oxazolidon-Derivaten der allgemeinen Formel I reagieren.



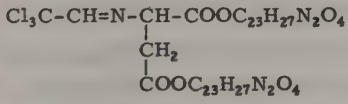
I

R' = H oder $CH(OH)CCl_3$

Aus diesen Oxazolidon-Derivaten erhielt R. HEISS in Reaktionen, auf die unten näher eingegangen wird, Dipeptid-Derivate.

In vorliegender Arbeit sollten diese Umsetzungen näher untersucht und auf kompliziertere Aminosäuren ausgedehnt werden.

Reaktionen von wasserfreiem Chloral mit Aminosäuren sind in der Literatur nicht beschrieben. Wohl hat M. BERGMANN (2) Chloralhydrat mit Asparaginsäure in Gegenwart von Brucin zu einer Verbindung $C_{52}H_{58}Cl_3N_5O_{12}$ umgesetzt, der er folgende Konstitution zuschreibt, die er aber nicht weiter untersucht hat:

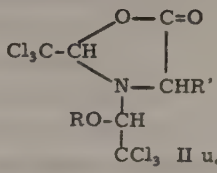


Arbeiten von O. WALLACH (3), A. EIBNER (4), O. DIMROTH und R. ZOEPPRITZ (5), S. GÄRTNER (6,7) und L. RÜGHEIMER (8) zeigen, daß Chloral je nach den Versuchsbedingungen und der Art des verwendeten Amins mit einem oder zwei Mol Base reagiert.

Reaktionen von Chloral mit Aminosäuren zu Oxazolidon-Derivaten

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst versucht, die Darstellung der von R. HEISS erhaltenen Oxazolidon-Derivate zu vereinfachen und zu verbessern.

R. HEISS hatte die Umsetzung von Aminosäuren mit einem großen Überschuß von wasserfreiem Chloral ohne Lösungsmittel ausgeführt. Glycin reagiert unter diesen Bedingungen zu einem Oxazolidon-Derivat der Konstitution II a.



II a u. III

II a	R = H	R' = H
II b	R = CH_3,	R' = H
III a	R = H	R' = CH_3
III b	R = CH_3,	R' = CH_3

Als ich diese Reaktion in Petroläther ausführte, wurde ein reineres, feinpulvriges Produkt erhalten. Versuche, andere Aminosäuren in Gegenwart von verschiedenen Lösungsmitteln mit Chloral umzusetzen, brachten keinen Erfolg.

Die Zeitdauer, in der wasserfreies Chloral mit Aminosäuren reagiert, ist sehr verschieden und hängt ab von der Art der verwendeten Aminosäure und der Beschaffenheit des eingesetzten Chlorals. Den Ablauf der Reaktion erkennt man daran, daß die zunächst inhomogene Mischung allmählich in eine Gallerte übergeht. Diese kristallisiert in einigen Tagen oder Wochen mehr oder weniger vollständig. Am schnellsten reagiert Glycin, etwas langsamer Alanin; andere Aminosäuren benötigen mehrere Wochen bis zur Beendigung der Reaktion.

Durch Vergleichsversuche konnten wir feststellen, daß es vorteilhaft ist die Umsetzungen von Aminosäuren mit Chloral unter Säurekatalyse auszuführen. Glycin reagiert mit Chloral bei Zugabe von 20-50 mMol Eisessig wesentlich schneller. Ähnliche Reaktionsbeschleunigungen waren auch bei anderen unten besprochenen Umsetzungen von Aminosäuren mit Chloral zu beobachten.

In Tabelle I sind die aus Aminosäuren und Chloral erhaltenen Addukte zusammengestellt.

Tabelle I

Aminosäure	Molverh. AS : Chl	Reaktions-Produkt	Ausb. % d. Th.	Katal.
(DL)Alanin	1 : 3	$C_7H_7Cl_6NO_3$	45	-
"	1 : 10	"	83	-
"	1 : 3	"	54	1
(L)Alanin	1 : 3	$C_7H_7Cl_6NO_3$	28	-
"	1 : 3	"	31	1
(DL)Serin	1 : 5	$C_7H_5Cl_6NO_3$	39	-
"	1 : 10	"	48	1
"	1 : 10	"	79	2
"	1 : 10	"	38	3
(DL)Cystein	1 : 3	$C_7H_5Cl_6NO_2S$		1

Katalysator: 1 = Eisessig; 2 = Eisessig/Natriumacetat;
3 = Eisessig/Pyridin.

Die Reaktionszeiten hängen von der Beschaffenheit des Chlorals ab und sind in der Tabelle nicht angegeben.

Bei der Aufarbeitung der in Tabelle I aufgeführten Versuche wurden immer Aminosäuren (teilweise auch als Chlorhydrate) zurückgewonnen. Die Ausbeuten sind berechnet auf die im Versuch eingesetzte Aminosäure.

In Versuchen Chloral mit (L)Phenylalanin, (DL)Threonin, (DL)- und (L)Methionin, (DL)Histidin, (DL)Isoleucin, Acetylglycin bzw. O-Benzyl-(DL)serin umzusetzen, wurde zwar eine Reaktion beobachtet; die Addukte waren aber so labil, daß sie während der Aufarbeitung zerfielen.

Weiterhin wurde versucht, Chloral durch Fluoral zu ersetzen. Die Umsetzung von Glycin mit Fluoral führte - selbst bei tiefen Temperaturen - weder mit, noch ohne Säurekatalyse zu einem stabilen Addukt.

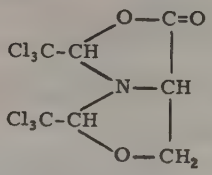
Das aus Chloral und Glycin erhaltene Addukt hat, aufgrund der von R. HEISS gegebenen Strukturformel, eine saure OH-Gruppe und reagiert mit Diazomethan [1]. Wir fanden jetzt, daß das methylierte Produkt IIb in guten Ausbeuten erhalten wird, wenn man bei tiefen Temperaturen arbeitet. Das IR-Spektrum der methylierten Verbindung IIb weist - im Unter-

schied zum nicht methylierten Dichloral-glycin - keine OH-Bande auf. Bei 1790 cm^{-1} findet sich eine ausgeprägte Lacton-Bande, die auch bei den anderen untersuchten Dichloral-aminosäuren an etwa der gleichen Stelle auftritt +).

Ganz analog verhält sich das aus Chloral und (DL)Alanin erhaltene Addukt (III) gegenüber Diazomethan; es wird O-Methyl-dichloral-alanin erhalten. Dieses hat ähnliche Eigenschaften, wie das entsprechende Glycin-Derivat.

Bei der Umsetzung von (DL)Serin mit Chloral erhält man nicht immer ein kristallines Produkt. Mit Sicherheit erreicht man Kristallisation, wenn man zur säurekatalysierten Reaktion von vornherein Natriumacetat oder nach längerem Stehen etwas Pyridin hinzufügt.

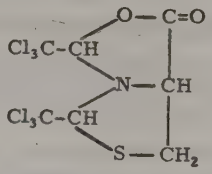
Das aus Chloral und (DL)Serin gebildete Addukt $C_7H_5Cl_6NO_3$ muß aufgrund der Zusammensetzung die Strukturformel IV haben.



IV

Die für Dichloral-(DL)serin gegebene Strukturformel IV wird durch das IR-Spektrum gestützt, das weder eine OH-, noch NH-Bande aufweist. Die Verbindung reagiert nicht mit Diazomethan.

Im IR-Spektrum des Dichloral-(DL)cysteins, dessen Zusammensetzung der des Dichloral-serins entspricht, findet sich ebenfalls keine NH- bzw. SH-Bande, so daß dem Cystein-Derivat die Strukturformel V zukommen muß.



V

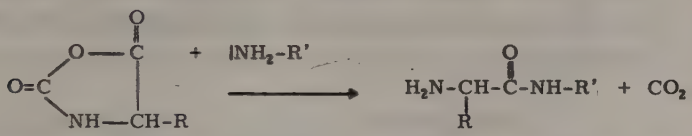
+) Die in IR-Spektren auftretenden charakteristischen Banden sind in Tabelle II Seite 18 zusammengestellt.

Überführung der Oxazolidon-Derivate in Di- bzw. Tripeptide

R. HEISS hatte an einigen Beispielen festgestellt, daß die aus Chloral und Aminosäuren erhaltenen Oxazolidon-Derivate mit Aminosäure-estern zu Dipeptid-Derivaten reagieren.

In der Literatur finden sich Peptidsynthesen, die eine gewisse Ähnlichkeit mit der von R. HEISS aufgefundenen Reaktion zeigen und die im folgenden kurz zusammengestellt seien.

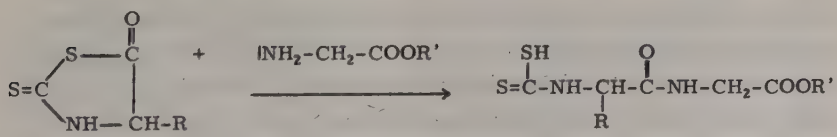
H. LEUCHS und W. MANASSE (9) stellten um die Jahrhundertwende die leichte Aminolyse von Oxazolid-2.5-dionen fest.



Optisch aktive Aminosäuren werden weder bei der Darstellung der Oxazolid-2.5-dione, noch bei der aminolytischen Aufspaltung derselben mit Basen racemisiert. Jedoch werden als störende Nebenreaktionen Polymerisationen beobachtet (vgl. 10-27).

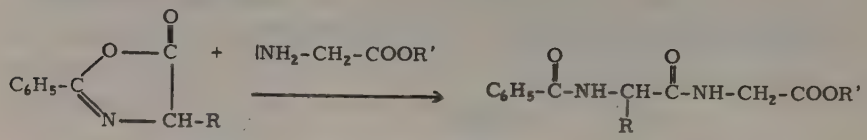
M. HUNT und V. DU VIGNEAUD (28) führten die Aufspaltung der Oxazolid-2.5-dione mit Aminosäure-estern durch. Jedoch gelang es erst J. L. BAILEY (29, 16) die zur Polymerisation führenden Nebenreaktionen durch gleichzeitige Einwirkung von Aminosäure-ester und tertiärer Base bei Temperaturen von -10° bis -70° auszuschalten.

S. I. HEILBRON, COOK A. H., A. L. LEVY und Mitarbeiter (30, 31) setzten Thio-thiazolidone mit Aminosäure- bzw. Dipeptid-estern und Triäthylamin in Chloroform um. Die Aminolyse der C-S-Bindung verlief glatt; jedoch war es schwierig, die Schutzgruppe zu beseitigen (vgl. z. B. 32-35).



A. C. DAVIS und A. L. LEVY (36) zeigten, daß substituierte Mercaptothiazolone schnell racemisieren.

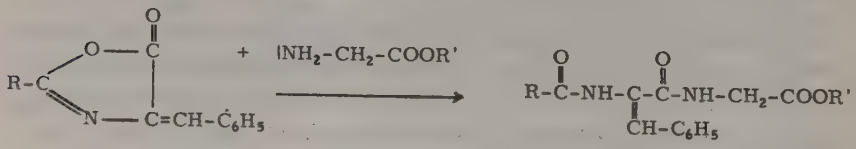
E. MOHR und Mitarbeiter (37-40), P. KARRER und G. BUSSMANN (41), J. L. O' BRIEN und C. NIEMANN (42) stellten substituierte Oxazolone her und fanden, daß diese Verbindungen bei Raumtemperatur oder bei etwas erhöhter Temperatur durch primäre Amine leicht aufgespalten werden (vgl. auch TH. WIELAND (43). Auch sekundäre Amine geben diese Reaktion, allerdings erst bei etwa 100°.



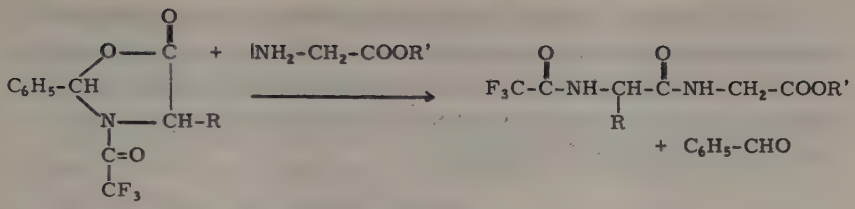
H. LETTRE' und M. E. FERNHOLZ (44) fanden, daß die Oxazolone bei längerem Erhitzen auch mit Äthanol, Benzyl- oder Isopropylalkohol reagieren und in die entsprechenden Ester der substituierten Aminosäuren übergehen; sekundäre Alkohole reagieren schwerer, tertiäre nicht mehr.

M. BERGMANN und Mitarbeiter (45), sowie H. LETTRE' und M. E. FERNHOLZ (44) setzten Oxazolone mit Aminosäure-estern zu substituierten Dipeptid-estern um, wobei allerdings weitgehend Racemisierung eintrat.

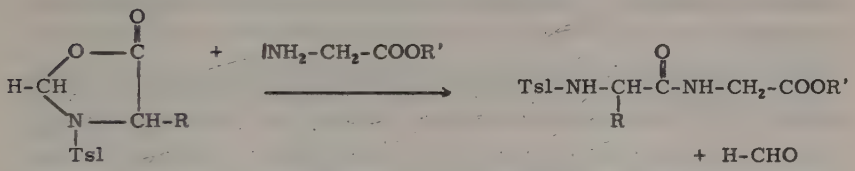
E. ERLENMEYER jr. und Mitarbeiter (46) fanden, daß 4-Alkyliden-2-alkyl(-aryl)-oxazolone, "Azlactone", zu Peptidsynthesen verwendbar sind, allerdings ebenfalls unter Racemisierung.



Fr. WEYGAND und Mitarbeiter (47-54) arbeiteten eine "Variante der Azlactonsynthese" aus. Sie setzten Trifluoracetyl-glycin mit Benzaldehyd und Trifluoressigsäureanhydrid in Gegenwart von Natrium-trifluoracetat zum 5-Oxo-2-phenyl-3-trifluoracetyl-oxazolidon um. Verbindungen dieses Typs lassen sich in siedendem Tetrahydrofuran leicht mit Aminosäure-estern aminolytisch zu den entsprechenden Trifluoracetyl-peptid-estern aufspalten. Der Trifluoracetyl-Rest wurde mit alkoholischer Lauge entfernt.



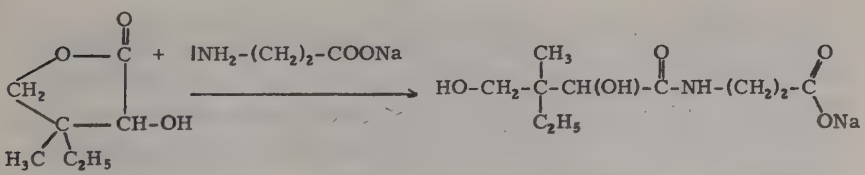
Fr. MICHEEL und Mitarbeiter (55-57) setzten N-p-Tosyl-α-aminosäuren mit Formaldehyd und Acetanhydrid in Eisessig bei 100° unter Säurekatalyse um. Die erhaltenen Oxazolidon(5)-Derivate reagierten mit Aminosäure-estern - bei kurzem Erhitzen auf 100° - zu N-p-Tosyl-peptid-estern. Bei der alkalischen Verseifung der N-p-Tosyl-peptid-ester bei Raumtemperatur wurden die entsprechenden N-p-Tosyl-dipeptide erhalten.



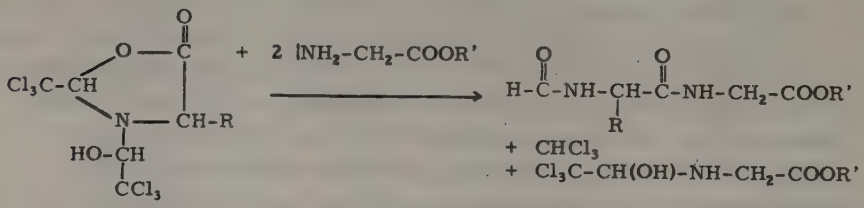
Es sei bemerkt, daß das Glycin-Oxazolidon-Derivat durch Äthanol wieder rückläufig gespalten wird, während das entsprechende Alaninprodukt weitgehend stabil ist.

Der Tosylrest wurde nach J. M. SWAN und V. DU VIGNEAUD (58) mit Natrium in flüssigem Ammoniak abgespalten.

Erwähnt sei auch die Darstellung der Homopantothensäure, die Th. WIELAND und E. Fr. MÖLLER (59) ausgeführt haben. Bei dieser Synthese wurde das α-Oxy-β-methyl-β-äthyl-γ-butyrolacton mit β-Alanin-natrium in methanolischer Lösung bei 30° in Gegenwart von Natrium-methylat umgesetzt (vgl. 60).

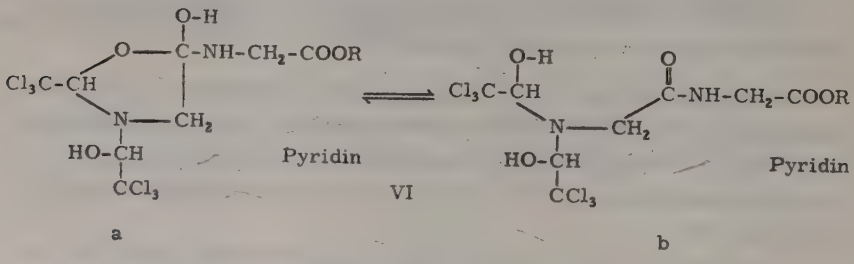


R. HEISS hatte die von ihm dargestellten Oxazolidon-Derivate mit Aminosäure-estern in ätherischer Lösung bei Raumtemperatur umgesetzt und erhielt die entsprechenden Formyl-dipeptid-ester. Bei Umsetzungen der Addukte, die zwei Chloralreste enthalten, verläuft diese Reaktion nach der folgenden allgemeinen Gleichung:



Da in diesen Umsetzungen 2 Mol Aminosäure-ester benötigt werden, haben wir versucht ein Mol Ester durch ein Mol einer anderen Base zu ersetzen.

Als wir die Reaktion von Dichloral-glycin mit Glycin-äthylester in Gegenwart von Pyridin ausführten, wurde - neben einer geringen Menge von Formyl-glycyl-glycin-äthylester - eine labile Verbindung isoliert, deren Zusammensetzung $C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5$ (bzw. $C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5 \cdot 2\,H_2O$) zeigt, daß die Verbindung auf 2 Mol Chloral 1 Mol Aminosäure und 1 Mol Aminosäure-ester enthält. Es ist zu vermuten, daß ein Pyridinsalz der Konstitution VI vorliegt.



Das IR-Spektrum des Pyridinsalzes $C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5$ weist wenig ausgeprägte Banden bei 3415 cm^{-1} und 3290 cm^{-1} für eine OH- bzw. NH-Gruppe auf. Die bei 1647 cm^{-1} und 1550 cm^{-1} auftretenden ausgeprägten Banden für eine Säureamidgruppe sprechen dafür, daß das Pyridinsalz wenigstens teilweise in der tautomeren Form VI b vorliegt.

Offenbar ist die Base Pyridin zu schwach, um in der Verbindung $C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5$ die Spaltung des einen Chloralrestes in Chloroform und die Formylgruppe und die Abspaltung des zweiten zu bewirken.

Bringt man dagegen Dichloral-glycin mit 1 Mol Glycin-äthylester in Gegenwart von 1 Mol Triäthylamin zur Reaktion, so werden 98% d. T. Formyl-glycyl-glycin-äthylester erhalten.

An einem einfachen Modell wurde versucht, ob Dichloral-glycin auch zum Aufbau von Tripeptiden geeignet ist. Bei der Umsetzung von Dichloral-glycin mit Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid in Gegenwart von Triäthylamin wurde in einer Ausbeute von 79% eine Verbindung erhalten, deren Summenformel $C_9H_{15}N_3O_5$ auf Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester stimmt.

Durch milde saure Verseifung - 0.5n alkoholische Salzsäure bei Raumtemperatur - des Formyl-tripeptid-esters $C_9H_{15}N_3O_5$ wurde Glycyl-glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid erhalten. Eine, allerdings nur geringe Menge, wurde in Triglycin übergeführt. Das Chromatogramm des Tripeptides zeigte, daß die Verbindung nicht durch Glycin oder Glycyl-glycin verunreinigt war.

Dichloral-(DL)alanin ergab bei der Reaktion mit Glycin-äthylester in Gegenwart von Pyridin keine der Struktur VI entsprechende Verbindung. In diesem Versuch wurde nur - in allerdings geringer Ausbeute (35%) - Formyl-alanyl-glycin-äthylester isoliert. 49% dieser Verbindung entstanden, als Dichloral-(DL)alanin mit Glycin-äthylester und Triäthylamin im Molverhältnis 1 : 1 : 1 umgesetzt wurde.

Auch Dichloral-(DL)alanin wurde zum Aufbau eines Tripeptid-Derivates benutzt. Es wurde mit Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid in Gegenwart von Triäthylamin umgesetzt, wobei in einer Ausbeute von 62% eine Verbindung erhalten wurde, deren Summenformel $C_{10}H_{17}N_3O_5$ auf Formyl-alanyl-glycyl-glycin-äthylester stimmte. Das IR-Spektrum war dem des Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylesters sehr ähnlich.

Um zu entscheiden, ob bei der Umsetzung von Dichloral-aminosäure-Addukten mit Aminosäure-estern Racemisierung eintritt, wurde Dichloral-(L)alanin mit Glycin-äthylester zur Reaktion gebracht. Die Umsetzung verlief so, wie R. HEISS beim (DL)Alanin gefunden hatte. Durch milde Verseifung des gebildeten Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylesters mit verdünnter alkoholischer Salzsäure wurde die Formylgruppe abgespalten

und anschliessend die Estergruppe alkalisch verseift. Das so erhaltene Dipeptid war papierchromatographisch rein und zeigte die für (L)Alanyl-glycin angegebene Drehung.

Damit ist gezeigt, daß bei der beschriebenen Peptidsynthese keine Racemisierung eingetreten ist.

Versuche, Dichloral-(DL) serin mit Aminosäure-ester umzusetzen, ergaben ein komplizierteres Erscheinungsbild. Um von Nebenreaktionen des Glycin-äthylesters unabhängig zu sein, wurde dieses Addukt zunächst in ätherischer Lösung mit Basen ähnlicher Stärke umgesetzt und zwar mit Butylamin (pK 3.27) und Benzylamin (pK 4.62).

Butylamin reagierte in unseren ersten Versuchen mit Dichloralserin in ätherischer Lösung bereits bei Raumtemperatur. Als die Umsetzung im Molverhältnis 0.9 : 1 ausgeführt wurde, ließ sich nur ein ziemlich unreines Stoffgemisch gewinnen. Dessen mögliche Bestandteile wurden mit Hilfe eines Diagrammes ermittelt, in das die Zusammensetzung von zu erwartenden Reaktionsprodukten eingesetzt worden war. Es zeigte sich, daß das Stoffgemisch - neben 20% Ausgangsmaterial - etwa 80% einer Verbindung der Zusammensetzung $C_{11}H_{16}Cl_6N_2O_3$ und der wahrscheinlichen Konstitution VII a enthielt.

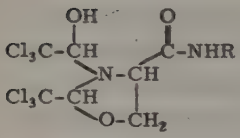
Als Butylamin mit Dichloral-serin im Molverhältnis 2.1 : 1 in ätherischer Lösung bei Raumtemperatur umgesetzt wurde, ließ sich eine Verbindung der Zusammensetzung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$ isolieren, der noch geringe Mengen einer chlorfreien Verbindung beigemischt waren. Auf Grund der Zusammensetzung ist anzunehmen, daß das Reaktionsprodukt die Struktur VIII a hat. Im IR-Spektrum der Verbindung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$ finden sich die nach dieser Strukturformel zu erwartenden Banden (siehe S. 19).

Bei der Umsetzung von Butylamin mit Dichloral-serin im Molverhältnis 3 : 1 wurde eine chlorfreie Verbindung isoliert, deren Analyse ungefähr auf eine Summenformel $C_7H_{14}N_2O_2$ stimmte. Ein mögliches Reaktionsprodukt wäre Seryl-butylamid (IX a); dieses hat die Zusammensetzung $C_7H_{16}N_2O_2$, enthält also zwei H-Atome mehr, als die Analyse ergeben hatte. Die Analyse konnte nicht kontrolliert werden, da die Verbindung später nicht mehr erhalten wurde. Im IR-Spektrum der Substanz vom Schmp. 90-91° findet sich eine NH- und OH-Bande, sowie die Säureamid-Banden I u. II (vgl. S. 19).

Die bei den Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin mit Aminen - in Abhängigkeit vom eingesetzten Molverhältnis - gebildeten (allerdings nicht reinen) Reaktionsprodukte lassen sich durch die Formeln VII-IX beschreiben:

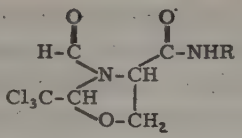
Molverhältnis Dichloral-serin/Base

1 : 1



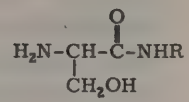
VII

1 : 2



VIII

1 : 3



IX

VII a, VIII a u. IX a R = C_4H_9;

VII b, VIII b u. IX b R = $CH_2-C_6H_5$;

VII c, VIII c u. IX c R = $CH_2-COOC_2H_5$;

Bemerkenswert ist, daß in diesen Reaktionen auch die Verbindungen VIII durch Base gespalten wurden, während die methylierten Addukte II b und III b, die eine ganz ähnliche Gruppierung enthalten, in den weiter unten (vgl. S. 15) besprochenen Umsetzungen durch Aminosäure-ester nicht gespalten werden.

Benzylamin reagierte mit Dichloral-serin bei Raumtemperatur in ätherischer Lösung so langsam, daß diese Reaktionen bei 40° vorgenommen wurden. Die Umsetzung der Komponenten im Molverhältnis 1,1 : 1 verläuft ähnlich, wie die von Butylamin. Eine orientierende Analyse des Stoffgemisches in Verbindung mit einer Diagramm-Auswertung ergab, daß etwa 80% der Verbindung VII b und etwa 20% der chlorärmeren Verbindung VIII b entstanden waren.

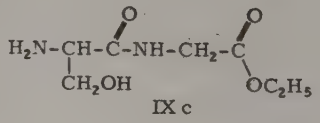
Bei der Umsetzung von Benzylamin mit Dichloral-serin im Molverhältnis 3 : 1 wurde eine Verbindung erhalten, deren Analyse ungefähr auf die Zusammensetzung $C_{10}H_{12}N_2O_2$ stimmte. (Seryl-benzylamid (IX b) hat die Summenformel $C_{10}H_{14}N_2O_2$). Im IR-Spektrum der Verbindung finden sich die OH- und NH-Bande, sowie die Säureamid-Banden I u. II fast bei den gleichen Wellenlängen, wie im Spektrum der mit Butylamin erhaltenen chlorfreien Verbindung.

Die Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin mit Aminen sind von Faktoren abhängig, die uns noch unbekannt sind; einige dieser Reaktionen konnten später nicht reproduziert werden. Als jedoch derartige Umsetzungen unter Katalyse - z.B. Ätzkali oder α-Pyridon - durchgeführt wurden, trat Säureamidbildung ein. Die Reaktionsprodukte waren aber andere als die in gleichen Umsetzungen ohne Katalyse erhaltenen.

Da wir die früheren Reaktionen in neue Glaskolben ausgeführt hatten, wurde später versucht, ob Ätzkali katalytisch wirkt. Als Butylamin mit Dichloral-serin im Molverhältnis 3 : 1 in Gegenwart von Ätzkali umgesetzt wurde, trat Reaktion ein, und es wurde die Verbindung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$ (VIII a) erhalten. Auch bei Verwendung eines großen Überschusses an Butylamin lief die Umsetzung nicht, wie früher, weiter zur Verbindung IX a.

Obwohl die Analysen der mit Butylamin und Benzylamin erhaltenen Verbindungen nicht gut stimmen, ist aus den Summenformeln zu entnehmen, daß Dichloral-serin zu Amiden reagiert hat. Die bei diesen Aminen gemachten Erfahrungen wurden bei den Umsetzungen von Glycin-äthylester mit Dichloral-serin benutzt.

Als Glycin-äthylester mit Dichloral-serin im Molverhältnis 3 : 1 umgesetzt wurde, ließ sich in fast theoretischer Ausbeute eine Verbindung erhalten, deren Analyse ungefähr auf die Summenformel $C_7H_{14}N_2O_4$ eines Seryl-glycin-äthylesters IX c stimmt.



IX c

Das IR-Spektrum der Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ weist die Banden auf, die von einer Verbindung der Struktur IX c zu erwarten sind (siehe S. 19).

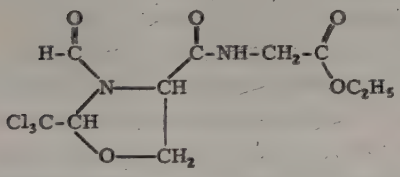
Um die Konstitution der Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ festzulegen, wurde der vermutliche Dipeptid-ester mit verdünnter Natronlauge verseift. Nach Zugabe von verdünnter Salzsäure ließ sich das Dipeptid-hydrochlorid isolieren, das durch IR-Spektrum und Papierchromatogramm als Seryl-glycin-hydrochlorid +) identifiziert wurde.

+) Herrn Dr. E.WÜNSCH vom "Max-Planck-Institut für Eiweißforschung in München" danken wir für die Überlassung von Seryl-glycin.

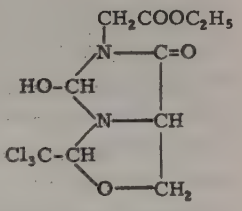
In späteren Ansätzen wurde die Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ nicht mehr erhalten. Jedoch konnte die Umsetzung von Dichloral-serin mit Glycin-äthylester durch Zugabe von Ätzkali katalysiert werden. Die - nunmehr reproduzierbare - Reaktion verlief analog wie die mit Butylamin; bei Umsetzung der Komponenten im Molverhältnis 1 : 3 wurde in einer Ausbeute von 44% eine Verbindung vom Schmp. 138-139° und der Zusammensetzung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ isoliert.

Eine Verbindung der gleichen Summenformel $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ - jedoch bei 98-99° schmelzend - wurde erhalten, als man die Umsetzung von Dichloral-serin mit Glycin-äthylester durch α-Pyridon katalysierte. In diesem Fall kann die Reaktion in Toluol durchgeführt werden, was insofern von Interesse ist, als einige Chloral-Addukte, die in anderen Lösungsmitteln leicht zerfallen, in Toluol ziemlich beständig sind.

Auf Grund der Zusammensetzung ist anzunehmen, daß die Verbindungen $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ sich von der Konstitutionsformel X a (= VIII c) ableiten; eine dieser Verbindungen könnte die Konstitution der cyclotautomeren Form X b haben.



X a (= VIII c)



X b

Die beiden Verbindungen $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 98-99° bzw. 138-139° reagieren, in Einklang mit den Strukturformeln X a oder b, nicht mit Diazomethan.

Im Gegensatz zu den leicht hydrolysierbaren Formyl-dipeptid-estern ließen sich die beiden Verbindungen $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ erst bei Verwendung eines großen Überschusses von 0,5n alkoholischer Salzsäure verseifen. Als kristallines Produkt wurde nur eine geringe Menge einer Verbindung isoliert, deren Papierchromatogramm den gleichen Rf-Wert ergab, wie das eines authentischen Präparates von Seryl-glycin-hydrochlorid. Aus

den öligen Hauptanteilen ließ sich nach anschließender alkalischer Verseifung eine Verbindung gewinnen, die im Papierchromatogramm ebenfalls den Rf-Wert des Seryl-glycin-hydrochlorids zeigte. Die Zersetzungspunkte der unter verschiedenen Bedingungen erhaltenen Verseifungsprodukte streuten erheblich (vgl. S. 60); jedoch stimmten die IR-Spektren überein.

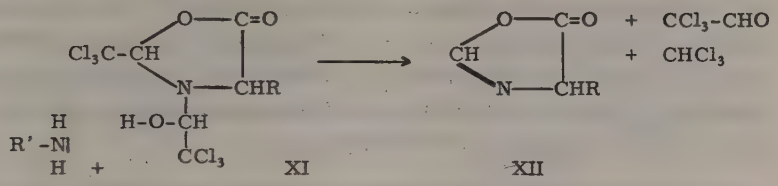
Mit Hilfe der IR-Spektren (siehe S. 19) lassen sich die Konstitutionsformeln X a bzw. X b den Verbindungen $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 138-139° bzw. 98-99° zuordnen. In beiden Spektren liegen die NH-Bande, die Estercarbonyl- und die Säureamid-Banden ungefähr bei den gleichen Wellenlängen. Das IR-Spektrum der Verbindung vom Schmp. 138-139° weist - im Unterschied zu dem der tieferschmelzenden - keine OH-Bande auf, jedoch eine Formylamid-Bande. Demnach dürfte der Verbindung vom Schmp. 138-139° die Konstitution X a zukommen und der tieferschmelzenden die cyclotautomere Form X b. Im Spektrum der Verbindung vom Schmp. 98-99° ist die Formylamid-Bande sehr schwach angedeutet, so daß diese Verbindung vielleicht eine geringe Menge der offenen Form X a enthält. Es wurde noch nicht versucht, die beiden Verbindungen $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ ineinander umzulagern.

Versuche, die Umsetzung von Dichloral-(DL)serin mit Glycin-äthylester auf andere Weise zu katalysieren - methanolische Kalilauge, Ätznatron, Pyridin - hatten keinen Erfolg oder führten zu unreinen Produkten (vgl. S. 55). Weiterhin wurde untersucht, ob Darstellungsweise und Reinheitsgrad des Dichloral-serins einen Einfluß auf die katalysierten Umsetzungen haben. Es zeigte sich, daß es keinen Unterschied macht, ob das Dichloralserin mit oder ohne Säurekatalyse hergestellt worden war. Mit hochgereinigtem Dichloral-serin wird die Ausbeute sogar schlechter.

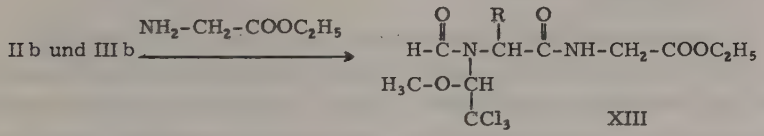
Die Umsetzungen von Lösungen unreiner Methionin-Addukte mit Butylamin und Glycin-äthylester führten, trotz vielfacher Variierung, nur zu öligen Umsetzungsprodukten. Im Falle des Glycin-äthylesters wurde ein Öl erhalten, dessen Löslichkeiten und Verhalten im Chromatogramm darauf hinweisen, daß das Methionin-Addukt mit Glycin-äthylester reagiert hat. Bei der Weiterverarbeitung dieser Verbindung - milde saure und alkalische Verseifung - wurden nur ölige Produkte erhalten.

Mechanismus der Umsetzung der Oxazolidon-Derivate mit Aminen

R. HEISS hatte für die Umsetzung der Chloral-Addukte (II a und III a) zwei Mechanismen diskutiert. Die Aminolyse könnte direkt mit den Oxazolidon-Derivaten der allgemeinen Formel XI verlaufen. Vielleicht aber löst die Base aus der sauren OH-Gruppe der Verbindung ein Proton ab; durch Abspaltung von Chloral und Chloroform würde ein Oxazolon-Derivat (XII) gebildet. Dieses könnte dann ebenfalls mit Aminosäure-estern zu den isolierten Formyl-dipeptid-estern reagieren.



Um zwischen diesen beiden von R. HEISS diskutierten Wegen für die Umsetzung von Dichloral-aminosäure-Addukten zu entscheiden, haben wir das methylierte Dichloral-glycin (II b) und Dichloral-(DL)alanin (III b) mit Glycin-äthylester umgesetzt. Dabei wurden Formyl-dipeptid-ester der Zusammensetzung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_5$ bzw. $C_{11}H_{17}Cl_3N_2O_5$ erhalten, welche noch den methylierten Chloralrest enthielten und also die Konstitution XIII haben.



XIII a R = H
XIII b R = CH_3

Die IR-Spektren der Verbindungen $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_5$ und $C_{11}H_{17}Cl_3N_2O_5$ weisen keine OH-Banden auf; die übrigen charakteristischen Banden liegen bei den zu erwartenden Wellenlängen.

Die Umsetzungen der methylierten Verbindungen mit Glycin-äthylester zu XIII a bzw. XIII b verlaufen unter ähnlich milden Bedingungen wie die der nichtmethylierten. Es besteht also kein Grund, für die Reaktionen der

nichtmethylierten Verbindungen, die intermediäre Bildung eines Oxazolon-Derivates anzunehmen.

Auch bei den Umsetzungen des Dichloral-(DL)serins mit primären Aminen und Glycin-äthylester kann die Reaktion nicht über ein Oxazolon-Derivat verlaufen, da hier als Reaktionsprodukte Verbindungen der Konstitution VII und VIII erhalten wurden.

Wir nehmen daher an, daß bei der Umsetzung der Dichloral-aminosäure-Addukte (A) mit Aminen der Angriff der Base am Lacton-carbonyl erfolgt (vgl. Schema S. 17). Die zunächst gebildete Zwischenstufe (B) wird sich zu C stabilisieren. Es ist möglich, daß in der auf Seite 8 erwähnten Umsetzung von Dichloral-glycin mit Glycin-äthylester in Gegenwart von Pyridin ein Pyridinsalz der Zwischenstufe C erhalten wird. Auch das bei den Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin mit Benzylamin erhaltene Reaktionsprodukt VII b ist ein Derivat der Zwischenstufe C.

Aus den methylierten Verbindungen der allgemeinen Formel A ($R = CH_3$) wird bei Einwirkung der verwendeten primären Amine nur Chloroform abgespalten, wobei Verbindungen der Konstitution D gebildet werden. Diese Reaktion wurde beobachtet bei methyliertem Dichloral-glycin und Dichloral-(DL)alanin, sowie bei Umsetzungen des Dichloral-(DL)serins.

Aus den nichtmethylierten Verbindungen, die sich von der allgemeinen Formel A (R = H) ableiten, wird durch Base außer Chloroform noch 1 Mol Chloral abgespalten, wobei die formylierten Verbindungen der allgemeinen Formel E erhalten werden.

Die nebenstehend beschriebenen Reaktionen zeigen, daß einige der aus Chloral und Aminosäuren gebildeten Oxazolidon-Derivate zur Knüpfung von Peptidbindungen benutzt werden können. Von Interesse ist, daß sowohl die Bildung der Oxazolidon-Derivate, als auch die Reaktionen dieser Verbindungen mit Aminosäure-estern zu Peptid-Derivaten durch Katalysatoren beeinflußt werden. Diese Beobachtungen - die erst später gemacht wurden - lassen sich bei der weiteren Bearbeitung des Gebietes nutzen.

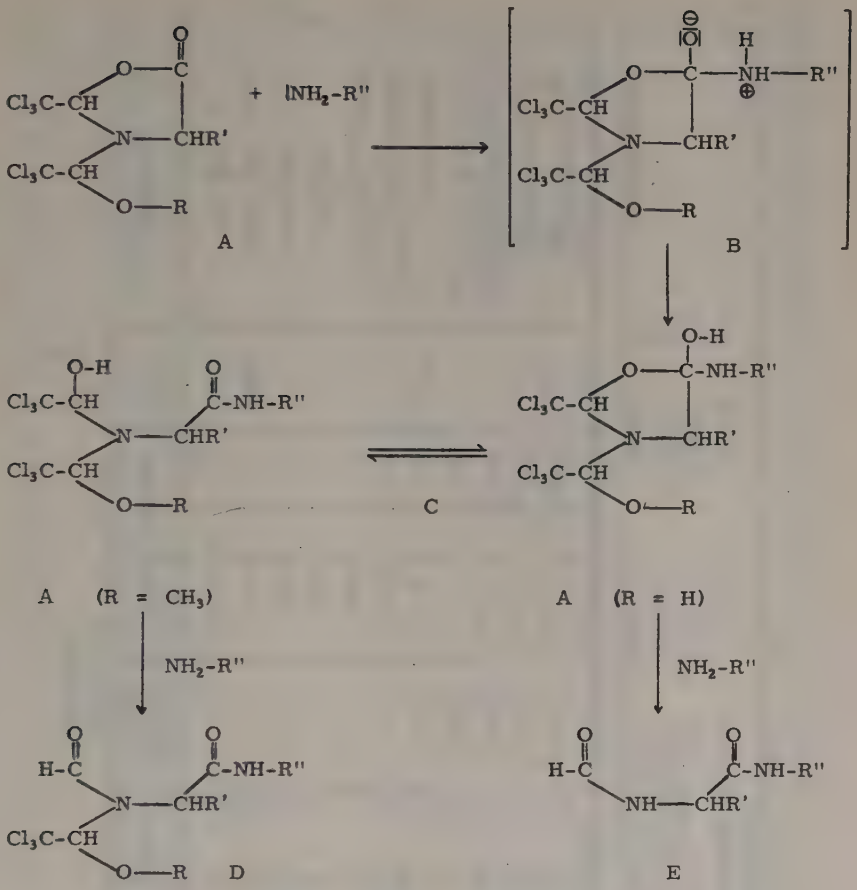

A
+ NH2-R''
B
C
A (R = CH3)
NH2-R''
D
A (R = H)
NH2-R''
E

Tabelle IIa

Substanz	OH	NH	Lacton	Ester-carbonyl	(CO)	Formyl-amid	Säureamid I	Säureamid II
DC-gly	3400	-	1812/1780	-	-	-	-	-
DC-ala	3430	-	1785	-	-	-	-	-
DC-ser	-	-	1790	-	-	-	-	-
DC-cys	-	-	1790	-	-	-	-	-
meth-DC-gly	-	-	1790	-	-	-	-	-
meth-DC-ala	-	-	1803	-	-	-	-	-
Pyridinsalz	3415	3290	-	1742	-	-	1647	1550
F-methchl-gly-glyÄE	-	3350	-	1742	-	1685	1663	1520
F-methchl-ala-glyÄE	-	3295	-	1745	-	1683	1660	1552
F-gly-gly-glyÄE	-	3230	-	1732	-	1682	1650	1552
F-ala-gly-glyÄE	-	3230	-	1730	-	(1675)	1650	1557/1527

Bezeichnungen:

ala	Alanin	glyÄE	Glycin-äthylester
cys	Cystein	meth	O-Methyl
DC	Dichloral	methchl	O-Methylchloral
F	Formyl	ser	Serin
gly	Glycin	( )	schwache Bande oder Schulter

Tabelle IIb

Substanz	OH	NH	Lacton	Ester-carbonyl	(CO)	Formyl-amid	Säureamid I	Säureamid II
DC-ser/ButA								
(VIII a) 1 : 2	(3420)	3280	-	-	-	1682	1647	1565
(IX a) 1 : 3	(3315)	3280	-	-	-	-	1655	1555
DC-ser/BenzA								
(VII b) 1 : 1	(3420)	3318	-	-	-	-	1652	1557
(IX b) 1 : 3	(3320)	3260	-	-	-	-	(1655)1630	1560
DC-ser/GlyÄE								
(IX c) 1 : 3	3340	3220	-	(1742)	1713	-	1672/1645	(1550)1515
(X a) 138-139°	-	3265	-	1743	1703	1687	1662	1577
(X b) 98- 99°	3350	3295	-	1743	(1700)	(1682)	1655	1558
Ser-glyÄE/HCl	(3400)	3270/2950	-	1737	-	-	1678	1562

Bezeichnungen:

DC	Dichloral
glyÄE	Glycin-äthylester
ser	Serin
BenzA	Benzylamin
ButA	Butylamin
( )	schwache Bande oder Schulter

Experimenteller Teil

Umsetzungen von Aminosäuren mit Chloral zu Oxazolidon-Derivaten

Wasserfreies Chloral (vgl. 61,62)

66 g (400 mMol) Chloralhydrat wurden im Scheidetrichter mit 66 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 15 Min. wurden etwa 10 g Phosphor(V)-oxyd langsam unter Schütteln zugesetzt. Die anfangs heftige Reaktion war nach 15 Min. beendet. 15 Min. später trennten sich die beiden Schichten scharf. Eine Bildung von Metachloral wurde nicht beobachtet.

Die Schwefelsäure wurde durch das Phosphor(V)-oxyd abgelassen und das Chloral durch die obere Öffnung des Scheidetrichters entnommen. Das Chloral wurde sofort bei 36-40° im Wasserstrahlvakuum destilliert. Die Ausbeute betrug 34.5 ccm (88% d.Th.).

Bei Einhaltung dieser Arbeitsweise reagierte das gewonnene Chloral fast neutral und war frei von Chlorid-Ionen. Wird das Phosphor(V)-oxyd zu schnell zugesetzt, so erhitzt sich das Reaktionsgemisch zu stark. In diesem Fall reagiert das Chloral sauer; ebenso, wenn man die Destillation bei zu hoher Bad-Temperatur durchführt.

Dichloral-glycin

1.1 Umsetzungen von Glycin mit Chloral (II a)

1.1 a in Petroläther

7.51 g (100 mMol) feinp. Glycin wurden mit 29.5 g (20 ccm; 200 mMol) wasserfreiem Chloral und 10 ccm tiefsiedendem abs. Petroläther versetzt. Das Glycin setzte sich am Boden ab. Nachdem die kristalline Deckschicht nach 8 Stdn. zerkleinert und das Gemisch etwas durchgerieben worden war, erstarrte die Mischung nach 3 Tagen. Das Produkt war, im Gegensatz zu Ansätzen ohne Petrolätherzusatz, pulvrig spröde.

Zur Entfernung von nicht umgesetztem Chloral wurde das Rohprodukt wiederholt mit Petroläther durchgerieben, die Petroläther-Lösung abfiltriert und auf Chloralhydrat verarbeitet. Der Rückstand wurde in Methanol gelöst und in etwa 10 ccm dest. Wasser einfiltriert. Das nicht

umgesetzte Glycin (40%) verblieb grobkristallin auf dem Filter +). Versetzt man die methanolisch-wässrige Lösung allmählich mit Wasser, so scheidet sich Dichloral-glycin in Form von langen, farblosen Nadeln ab.

Die Löslichkeiten der Verbindung entsprachen den von R. HEISS beschriebenen.

Es wurden 14.3 g (41% d. Th., bez. auf eingesetzte Säure) Dichloral-glycin erhalten, das meist schon den Schmp. 116° ++) hatte, den R. HEISS für die reine Verbindung angibt.

Zur weiteren Reinigung wurde das Produkt eventuell in kaltem Methanol gelöst und die Lösung in kaltes Wasser eingetropft.

Setzt man Glycin mit Chloral in Gegenwart von 2 ccm Äther um, so wird die Ausbeute an Dichloral-glycin schlechter.

1.1 b unter Säureaktivierung

7.5 g (100 mMol) Glycin wurden mit 20 ccm (200 mMol) wasserfreiem Chloral und 3 ccm (50 mMol) Eisessig im geschlossenen Kolben mit einem Magnetrührer gerührt. Bereits nach 17 Stdn. erstarrte das Reaktionsgemisch.

Bei der Aufarbeitung (vgl. 1.1 a) nach 6 Tagen wurden 12.6 g (35.8% d. Th., bez. auf einges. Säure) der bei 116° schmelzenden Nadeln erhalten, die durch Mischschmelzpunkt mit Dichloral-glycin identifiziert wurden.

Verwendet man in dieser Umsetzung mehr Eisessig, so wird weniger Dichloral-glycin erhalten. - Bei Zugabe von mehr als 10% (bez. auf einges. Aminosäure) Triäthylamin ließ sich kein Addukt isolieren.

1.2 O-Methyl-dichloral-glycin (IIb)

In eine ätherische Lösung von etwa 4 g (100 mMol) Diazomethan - dargestellt aus 10 g Nitrosomethylharnstoff - wurde bei 0° eine Lösung von 3.49 g (10 mMol) Dichloral-glycin in 80 ccm Äther einfiltriert. Bei dieser Temperatur verlief die Reaktion sehr ruhig.

+) Auch bei der Aufarbeitung der im folgenden beschriebenen Umsetzungen von Aminosäuren mit Chloral wurden die nicht umgesetzten Aminosäuren durch Behandeln der Reaktionsprodukte mit Alkohol zurückgewonnen.

++) Alle Schmelzpunkte wurden unter dem Schmelzpunktsmikroskop (Kofler) bestimmt.

Nach 8 Stdn. wurde der Äther bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluß langsam abgezogen (bei Lichtzutritt färbt sich das Produkt allmählich braun). Das zurückbleibende feste Rohprodukt enthielt neben O-Methyl-dichloral-glycin noch etwas Ausgangsmaterial und wenig Glycin, das bei Umsetzungen fast immer in kleiner Menge entsteht.

Beim Durchreiben des Gemisches mit kaltem 96proz. Äthanol ging sowohl das Dichloral-glycin, als auch das methylierte Produkt in Lösung, während das Glycin auf dem Filter zurückblieb. Die alkoholische Lösung wurde langsam mit dest. Wasser auf das doppelte Volumen gebracht, wobei 1.97 g (53.8% d. Th.) O-Methyl-dichloral-glycin in Form von farblosen, feinen Nädelchen mit dem Schmp. 169-170° auskristallisierten. Beim Umkristallisieren aus Methanol änderte sich der Schmp. nicht mehr.

Versetzt man die alkoholisch-wässrige Lösung mit mehr Wasser, so wird nur eine geringe Menge des nicht methylierten Ausgangsstoffes zurückgewonnen.

Führt man die Verätherung nach R. HEISS bei höheren Temperaturen aus, so ist die Ausbeute an methyliertem Dichloral-glycin sehr gering.

Das O-Methyl-dichloral-glycin wurde durch Mischschmelzpunkt mit einem Präparat von R. HEISS identifiziert. Die von R. HEISS mitgeteilte Analyse wurde durch Bestimmung des Methoxylgehaltes ergänzt.

4.964 mg Substanz, 3.98 ccm n/50 $Na_2S_2O_3$

$C_7H_7Cl_6NO_3$ (365.8) Ber. OCH_3 8.48
Gef. 8,30

1.3 Umsetzung von Glycin-äthylester mit Chloral

Zur Orientierung wurde auch die Umsetzung von Glycin-äthylester mit wasserfreiem Chloral untersucht.

2 ccm (20 mMol) Glycin-äthylester wurden in 20 ccm abs. Äther langsam mit 12 ccm (120 mMol) Eisessig versetzt. Die Reaktion verlief auch bei 0° heftig. Nachdem ungefähr 20 mMol Eisessig zugesetzt waren, schieden sich feine Nädelchen vom Schmp. 64-65° ab, die als Glycin-äthylesteracetat identifiziert wurden. Diese Kristalle lösten sich im Überschuß von Eisessig wieder auf. Hierauf wurde mit 4 ccm (40 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt, wobei keine Ausfällung zu beobachten war.

Bei Zugabe von feuchtem Äther schieden sich aus der gelben oder auch braunen Lösung 852 mg (31.5% d.Th., bez. auf Ester) Nadeln vom Roh-Schmp. 140-141° ab. Nach Umkristallisation aus Alkohol/Äther lag der Schmp. bei 144°, ebenso wie der Mischschmelzpunkt mit Glycin-äthylester-hydrochlorid.

Die Ausbeute an Ester-hydrochlorid ist abhängig von den Mengenverhältnissen und steigt beim Molverhältnis Chloral/Ester/Eisessig 1 : 1 : 0 auf 12.6% (1 : 0.5 : 0, 8.6%). Gibt man Eisessig zum Reaktionsgemisch, so werden bei einer Umsetzung im Molverhältnis 1 : 0.5 : 3 31.5% Glycin-äthylester-hydrochlorid erhalten.

Dichloral-(DL)alanin

2.1 Umsetzungen von (DL)Alanin mit Chloral (III a)

2.1 a im Molverhältnis 1 : 10

2 g (22 mMol) feinpulv. (DL)Alanin wurden mit 22 ccm (220 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt und gut durchgerieben. Das Gemisch wurde nach 24 Stdn. gallertig. Nach dreitägigem Stehen bei Raumtemperatur wurde das Produkt mit kleinen Anteilen Wasser durchgeknetet und abfiltriert. Der in Wasser schwer lösliche Rückstand wurde wie unter 1.1 a angegeben aufgearbeitet; statt Methanol wurde Äthanol verwendet. Aus der äthanolisch-wässrigen Lösung wurden 6.85 g (83.4% d.Th., bez. auf einges. Säure) Dichloral-(DL)alanin in Form farbloser, langer Nadeln vom Schmp. 135° erhalten. Zur Reinigung wurde aus Äthanol/Wasser umgefällt, wobei der Schmp. auf 140-141° stieg.

Dichloral-(DL)alanin ist in Methanol, Äthanol, Äther, Chloroform und Essigester leicht und in Wasser und Petroläther schwer löslich. Die Löslichkeit in Äther ist geringer als die des Dichloral-glycins; 10 mMol Dichloral-glycin lösen sich bei Raumtemperatur in etwa 10 ccm Äther, wogegen 10 mMol des Alaninproduktes sich in etwa 40 ccm Äther lösen.

Unter dem Schmelzpunktmikroskop zeigte die Substanz folgende Umwandlungspunkte: 134.5-135°, 176-178°, 198°.

4.512 mg Substanz, 3.80 mg CO_2 0.77 mg H_2O
4.590 mg Substanz, 0.135 ccm N_2 bei 20° und 760 Torr
24.52 mg Substanz, 20.02 ccm n/50 $AgNO_3$

$C_7H_7Cl_6NO_3$ (365.9)	Ber.	C 22.98	H 1.93	Cl 58.15	N 3.83
	Gef.	22.98	1.91	57.90	3.43

In obigem Versuch wurde eine maximale Ausbeute angegeben, die nicht immer erreicht wurde und die offensichtlich sehr abhängig von der Beschaffenheit des Chlorals ist. - Führt man die Umsetzung von Alanin mit Chloral in Äther aus, so verläuft die Reaktion langsamer und die Ausbeute ist wesentlich schlechter.

2.1 b im Molverhältnis 1 : 3

4.45 g (50 mMol) (DL)Alanin wurden mit 15 ccm (150 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt. Nach 20 Stdn. kristallisierte das Reaktionsgemisch. Die Aufarbeitung wurde nach 8 Tagen, wie unter 1.1 a angegeben, ausgeführt; statt Methanol wurde Äthanol verwendet. Es wurden 8.25 g (45% d.Th., bez. auf einges. Säure; 2.3 g Alanin wurden zurückgewogen) Nadeln erhalten, die bei 141-142° schmolzen und demnach reiner waren, als das unter 2.1 a beschriebene Produkt. Beim Umfällen aus Alkohol/Wasser änderte sich der Schmp. nicht mehr. Die Verbindung gab keine Schmelzpunktsdepression mit der unter 2.1 a beschriebenen.

2.1 c unter Säureaktivierung

2.24 g (25.1 mMol) (DL)Alanin wurden unter Rühren mit 7.5 ccm (76.3 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.4 ccm (7.0 mMol) Eisessig versetzt. Das Reaktionsgemisch erstarrte nach etwa 13 Stdn.. Bei der Aufarbeitung (siehe 1.1 a und 2.1 a) nach 2 Tagen wurden 4.41 g (48% d.Th., bez. auf einges. Säure) Dichloral-(DL)alanin vom Roh-Schmp. 138-139° erhalten. Die Reinigung erfolgte wie oben beschrieben. Es wurden 1.023 g nicht umgesetzte Aminosäure zurückerhalten.

In einem Parallelansatz wurden, bei Aufarbeitung nach 5 Tagen, 4.96 g (54% d.Th., bez. auf einges. Säure) Dichloral-(DL)alanin vom Roh-Schmp. 135-136° erhalten.

Das Dichloral-(DL)alanin wurde durch Mischschmelzpunkt mit dem - nach 2.1 a hergestellten - Produkt identifiziert.

2.2 O-Methyl-dichloral-(DL)alanin (III b)

In eine filtrierte Lösung von 3.66 g (10 mMol) Dichloral-(DL) alanin in 100 ccm abs. Äther wurden bei -5° 100 ccm einer auf 0° gekühlten ätherischen Diazomethan-Lösung (100 mMol; hergestellt aus 100 mMol Nitrosomethylharnstoff) langsam unter Rühren gegeben. Die Reaktion verlief bei dieser Temperatur nicht sehr heftig.

Nach viertägigem Stehen bei 0° wurde der Äther abgezogen und das anfallende gelbe Öl durch Verreiben mit Petroläther zur Kristallisation gebracht. Das Rohprodukt wurde in Tetrachlorkohlenstoff aufgenommen, wobei das gebildete Metachloral (50 mg) zurückblieb. Nach Einengen der Lösung und Umfällen aus Äthanol/Wasser wurden 2.94 g (78% d. Th.) des methylierten Produktes in Form von langen, farblosen Nadeln erhalten. Die Verbindung schmilzt bei 104-105°.

O-Methyl-dichloral-(DL)alanin ist in Methanol, Äthanol, Äther, Tetrahydrofuran, heißem Petroläther, Essigester, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff leicht, in kaltem Petroläther mäßig und in Wasser schwer löslich.

4.500 mg Substanz, 4.18 mg CO_2 1.05 mg H_2O
5.812 mg Substanz, 0.186 ccm N_2 bei 26° und 752 Torr
20.75 mg Substanz, 16.36 ccm n/50 $AgNO_3$
3.980 mg Substanz, 3.17 ccm n/50 $Na_2S_2O_3$

$C_8H_9Cl_6NO_3$ (379.9)

Ber.	C 25.29	H 2.39	Cl 56.00	N 3.69	CH_3O 8.17
Gef.	25.35	2.61	55.91	3.62	8.24

3 Dichloral-(L)alanin

2.23 g (25 mMol) (L)Alanin wurden mit 6.7 ccm (67.5 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 3-4 Tagen wurde das Gemisch zäh-viskos. Bei der Aufarbeitung (siehe 1.1 a und 2.1 a) nach 6 Tagen wurden 2.6 g (28.4% d. Th., bez. auf einges. Säure) einer in Nadeln kristallisierenden Verbindung mit dem Schmp. 121-122° erhalten. Das Produkt wurde aus Äthanol/Wasser umgefällt, wobei der Schmp. sich nicht änderte. 1.46 g der nicht umgesetzten Säure wurden zurückerhalten.

Die Chloralverbindung der optisch aktiven Säure ist weniger kristallisationsfreudig als die der inaktiven.

Setzt man obigem Ansatz 7.0 mMol Eisessig zu, so wird das Reaktionsgemisch schon nach 20 Stdn. hochviskos. Bei der Aufarbeitung (vgl. oben) nach 18 Tagen wurden 2.83 g (30.9% d.Th., bez. auf einges. Aminosäure) Dichloral-(L)alanin vom Schmp. 121-122° erhalten. Zur Analyse wurde aus Äthanol/Wasser umgefällt.

5.578 mg Substanz, 4.727 mg CO_2 1.170 mg H_2O
6.397 mg Substanz, 0.225 ccm N_2 bei 24° und 716 Torr

$C_7H_7Cl_6NO_3$ (365.9) Ber. C 22.98 H 1.93 N 3.83
Gef. 23.13 2.35 3.80

4 Dichloral-(DL)serin

4.1 Umsetzungen von Serin mit Chloral (IV)

4.1 a im Molverhältnis 1 : 5

2.11 g (20 mMol) (DL)Serin wurden mit 10 ccm (100 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt. Nach dreitägigem Stehen bei Raumtemperatur erstarrte das Reaktionsgemisch zu einer hell-rotbraunen Masse.

Das Produkt wurde zunächst mit wenig 96proz. Äthanol angeteigt. Bei Zugabe von weiterem Äthanol ging das Addukt in Lösung; das nicht umgesetzte Serin wurde abgetrennt und das Filtrat wie beim Dichloral-glycin (vgl. 1.1 a) aufgearbeitet.

2.84 g (38.8% d.Th., bez. auf einges. Säure) Dichloral-(DL)serin wurden in Form von seidig glänzenden Plättchen vom Schmp. 129-130° erhalten.

Dichloral-(DL)serin ist in Methanol, Äthanol, Äther, Tetrahydrofuran, Chloroform und Essigester leicht und in Wasser und Petroläther schwer löslich.

4.445 mg Substanz, 3.80 mg CO_2 0.44 mg H_2O
9.798 mg Substanz, 0.361 ccm N_2 bei 22° und 720 Torr
20.96 mg Substanz, 17.23 ccm n/50 $AgNO_3$

$C_7H_5Cl_6NO_3$ (363.9) Ber. C 23.11 H 1.38 Cl 58.47 N 3.85
Gef. 23.33 1.11 58.29 4.03

Die in vorstehender Versuchsbeschreibung angegebene schnelle Reaktionszeit wurde nur einmal beobachtet. In anderen Fällen benötigte die Reaktion mehrere Wochen.

4.1 b unter Säureaktivierung

2.11 g (20 mMol) (DL)Serin wurden mit 21.5 ccm (200 mMol) wasserfreiem Chloral und 1 ccm (20 mMol) Eisessig versetzt. Nach 3 Tagen schwamm das Serin oben. Die Lösung färbte sich blaßgelb und trübte sich nach 5 Tagen.

Bei Aufarbeitung (vgl. 4.1 a) nach 13 Tagen wurden 3.53 g (48.3% d. Th., bez. auf einges. Aminosäure) Dichloral-(DL)serin erhalten, das sofort rein anfiel, und das durch Mischschmelzpunkt mit der nach 4.1 a dargestellten Verbindung identifiziert wurde. Das IR-Spektrum stimmte mit dem des Dichloral-serins überein, das nach 4.1 a erhalten worden war.

Der bei der Aufarbeitung verbleibende, in Äthanol schwer lösliche Rückstand enthält neben Serin noch ein Produkt, das offenbar mehr Chloral als die Verbindung vom Schmp. 129-130° addiert hatte. Das chloralreichere Produkt ist in Tetrahydrofuran leicht und in Äthanol, Äther, Essigester und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich. Diese Verbindung spaltet allmählich Chloral ab und geht in Dichloral-(DL)serin vom Schmp. 129-130° über.

4.1 c in Gegenwart von Eisessig/Natriumacetat

2.12 g (20 mMol) (DL)Serin wurden mit 2.15 ccm (200 mMol) wasserfreiem Chloral und 1.2 ccm (21 mMol) Eisessig unter Rühren versetzt. Der Versuchsansatz wurde solange magnetisch gerührt, als die Konsistenz es zuließ. Bereits nach 2 Stdn. zeigte das Serin Quellungserscheinungen; nach 18 Stdn. hatte es sich vollständig gelöst. Die Lösung wurde blaßgelb und zeigte pH 2-3. Nach 30 Stdn. wurden 5 mg (0.06 mMol) Natriumacetat zugesetzt; nach weiteren 10 Stdn. begann die Lösung trüb zu werden und war nach insgesamt 8-10 Tagen durchkristallisiert.

Das Gemisch wurde in Äthanol aufgenommen. Der äthanol-lösliche Anteil wurde in Wasser eingetropft, wobei 3.92 g (53.4% d. Th., bez. auf einges. Aminosäure) Dichloral-serin vom Roh-Schmp. 126° erhalten wurden.

Beim weiteren Behandeln des in Äthanol schwer löslichen Rückstandes mit abs. Äther geht ein Produkt in Lösung, das allmählich Chloral abspaltet und in Dichloral-serin vom Schmp. 128-130° (quadratische Platten) übergeht. Durch Zerfall des ätherlöslichen Produktes wurden 1.87 g (25.5% d.Th., bez. auf einges. Aminosäure) Dichloral-serin vom Schmp. 128 bis 130° erhalten. Die Verbindung wurde durch Mischschmelzpunkt mit dem vorstehend erhaltenen Präparat und durch ein IR-Spektrum identifiziert. Die Gesamtausbeute betrug bei diesem Ansatz 5.79 g (78.9% d.Th., bez. auf einges. Aminosäure).

Der in Äthanol und Äther schwer lösliche Rückstand (869 mg) wurde mit Tetrahydrofuran behandelt, wobei 423 mg (Metachloral) in Lösung gingen. Der in Tetrahydrofuran unlösliche Anteil bestand im wesentlichen aus nicht umgesetztem Serin.

4.1 d in Gegenwart von Eisessig/Pyridin

Wenn das hergestellte oder käufliche Chloral sauer reagiert, so kommt man bei Zugabe von Pyridin zu einem kristallinen Produkt:

Ein nach 4.1 b angesetztes Reaktionsgemisch wurde magnetisch gerührt. Das Serin hatte sich nach viertägigem Rühren fast vollständig gelöst. Die blaßgelbe Lösung trübte sich nach 6 Tagen und war nach 10 Tagen nur schwach viskos.

Das auf 0° gekühlte Gemisch wurde mit einer Lösung von 1 ccm (10 mMol) Pyridin in 5 ccm Petroläther unter Rühren versetzt. 5 Min. nach Zugabe des Pyridins erstarrte das nunmehr leicht braune Reaktionsgemisch fast vollständig. Nach einer Stunde wurde das Gemisch in 150 ccm 96proz. Äthanol aufgenommen und in 250 ccm dest. Wasser einfiltriert, wobei 2.79 g (38.2% d.Th., bez. auf einges. Aminosäure) Dichloral-(DL) serin erhalten wurden; 0.5 g nicht umgesetztes Serin wurden zurückgewonnen. Das Dichloral-serin fiel leicht bräunlich mit dem Roh-Schmp. 107° an.

Zur Reinigung wurde das Rohprodukt in 50 ccm 96proz. Äthanol gelöst, mit 750 mg Aktivkohle versetzt, kurz zum Sieden erhitzt und in 200 ccm dest. Wasser einfiltriert. Der Reinigungsverlust betrug 700 mg. Das nunmehr farblose Produkt hatte den Schmp. 120°. Die Verbindung wurde durch Mischschmelzpunkt identifiziert.

5 Dichloral-(DL)cystein

1.21 g (10 mMol) (DL)Cystein wurden unter Stickstoff mit 3 ccm (4.5 g; 30 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.15 ccm (3 mMol) Eisessig magnetisch gerührt. Nach 25 Min. kristallisierte das blaßgelbe Gemisch durch, so daß nicht mehr gerührt werden konnte. Das Reaktionsprodukt war nach 18 Stdn. kakaobraun und nach insgesamt 5 Tagen fest.

Das in Nadeln kristallisierende Dichloral-(DL)cystein zeigte einen Roh-Schmp. von 124-125°.

Zur Reinigung wurde das Produkt in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und das nicht umgesetzte Cystein abgetrennt. Das frisch umkristallisierte Dichloral-(DL)cystein enthält keine Aminosäure mehr; bei längerem Stehen erfolgt jedoch wieder teilweise Zersetzung in die Säure und in Chloral.

Zur Analyse wurde die Verbindung aus Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert. Wie die Analyse zeigt, war das Dichloral-(DL)cystein nicht mehr frei von Cystein.

3.650 mg Substanz, 3.110 mg CO_2 0.610 mg H_2O
3.643 mg Substanz, 0.146 ccm N_2 bei 23° und 720 Torr

$C_7H_5Cl_6NO_2S$ (379.9)	Ber.	C 22.13	H 1.33	N 3.69
	Gef.	23.25	1.87	4.37
Cystein	Ber.	C 29.74	H 5.82	N 11.56

6 Umsetzungen von weiteren Aminosäuren und Aminosäure-Derivaten mit Chloral

6.1 Umsetzung von (DL)Threonin

1.19 g (10 mMol) (DL)Threonin wurden mit 3 ccm (30 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.15 ccm (3 mMol) Eisessig magnetisch gerührt. Bereits nach 17 Stdn. wurde das Reaktionsgemisch gallertig und war nach 40 Stdn. zu einer von Kristallen durchsetzten Gallerte erstarrt.

Im Schmelzpunktmikroskop zeigte das nadelförmig kristallisierende, farblose Produkt einen Schmp. von 154-155°. Versuche, die Verbindung durch Umkristallisation oder Umfällung - auch aus inerten Lösungsmitteln - zu reinigen, schlugen bisher fehl.

6.2 Umsetzung von (DL)Histidin

1.32 g (10 mMol) (DL)Histidin wurden mit 11.5 ccm (110 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt. Nach 6 Wochen bildete sich an der Oberfläche und an den Gefäßwandungen eine harte kristalline Schicht. Die Kristalle wurden, zur Abtrennung von Chloral, mehrfach mit Petroläther gewaschen, wobei 7.89 g eines Produktes zurückblieben, das beim Stehen an der Luft Chloral abspaltete (für eine Verbindung, die auf 1 Mol Histidin 4 Mol Chloral enthält, wäre die theoretische Ausbeute 6.32 g).

Die mit Petroläther gewaschene Verbindung zeigte unter dem Schmelzpunktsmikroskop einen Schmp. von 129-130°. Sie war in Tetrahydrofuran und Chloroform leicht, in Essigester, warmem Äthanol und Äther mäßig und in Wasser, kaltem Äthanol und Äther, sowie in Petroläther schwer löslich. Das Histidin-Chloral-Addukt konnte bisher nicht zur Analyse gereinigt werden. Versuche, die Verbindung durch Behandeln mit Diazomethan zu stabilisieren oder sie direkt mit Aminen umzusetzen hatten keinen Erfolg; bei diesen Reaktionen zersetzte sich das Addukt und es wurde Histidin isoliert.

6.3 Umsetzung von (DL)Isoleucin

1.31 g (10 mMol) (DL)Isoleucin wurden mit 2 ccm (20 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt. Es bildeten sich bald feine weiße Nadeln; nach etwa 14 Tagen wurde das Reaktionsgemisch fest.

Das Produkt war in Petroläther löslich, zersetzte sich jedoch bereits beim Abfiltrieren wieder in die Ausgangskomponenten. Im Schmelzpunktsmikroskop zeigte die Verbindung einen Schmp. von 90°. Bei höheren Temperaturen bildete sich wieder ein kristallines Produkt, das dann einen Zers. P. von 160-165° hatte.

Versuche, das Rohprodukt zu reinigen - auch aus inerten Lösungsmitteln - schlugen bisher fehl. Die Verbindung ist äußerst empfindlich gegenüber Äther, Tetrahydrofuran und Chloroform. Durch diese Lösungsmittel wird sie fast augenblicklich in die Ausgangskomponenten gespalten.

6.4 Umsetzungen von (DL)Methionin und (L)Methionin

1.03 g (7 mMol) (DL)Methionin wurden unter Rühren mit 3 ccm (30.5 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.1 ccm (1.7 mMol) Eisessig

versetzt. Das Methionin hatte sich nach 15 Stdn. fast vollständig gelöst. Die Viskosität der Lösung nahm während der nächsten 3 Stdn. laufend ab, wobei die Lösung blaßgelb wurde. Nach 28 Tagen war das Reaktionsgemisch zäh-viskos und etwas trüb. Das gelbe Produkt wurde mehrfach mit tiefgekühltem abs. Äther durchgerieben, wobei 574.3 mg Plättchen zurückblieben. Diese zersetzten sich bei 140°; das Zersetzungsprodukt hatte den Schmp. von Methionin (235-245°). Die sich bei 140° zersetzende Verbindung war chlorhaltig. Sie konnte nicht zur Analyse gereinigt werden. Ihre Umsetzung mit Basen wurde noch nicht untersucht.

Da sich aus der Mutterlauge der Plättchen kein definiertes Reaktionsprodukt gewinnen ließ, wurde versucht, ob man durch Umsetzung mit Basen zu einem solchen kommen könne.

Die Mutterlauge der Plättchen wurde, zur Abtrennung von überschüssigem Chloral, mit Petroläther versetzt. Der in Petroläther schwer lösliche Rückstand (Rf-Wert 0.2859; Butanol/Eisessig/Wasser, 4 : 1 : 1) wurde - aufgeschlämmt in Petroläther - bei -65° mit 2 ccm (20.3 mMol) Butylamin versetzt und drei Tage bei 0° belassen. Anschließend wurde die überstehende Lösung abgegossen und der ölige Rückstand mehrfach mit Petroläther durchgerieben. Es blieb eine geringe Menge Methionin (Roh-Schmp. 230°) zurück. Beim Einengen der vereinigten Petroläther-Lösungen wurde ein rotoranges Öl (Rf-Wert 0.2681; Durchf. wie oben) erhalten. Der Rf-Wert des mitlaufenden Methionins lag bei 0.2352, so daß aus den Chromatogrammen wohl zu erkennen ist, daß Methionin reagiert hat.

Wenn man (DL)- oder (L)-Methionin mit mehr Chloral (Molverhältnis 1 : 6) unter Eisessig-Katalyse umsetzt, so wird der zäh-viskose Zustand schon nach 4 Tagen erreicht.

Vorversuche hatten gezeigt, daß das Reaktionsprodukt aus Methionin und Chloral in toluolischer Lösung, nicht aber in Äther, relativ beständig ist. Es wurde daher in einem orientierenden Versuch geprüft, ob die toluolische Lösung mit einem Überschuß von Glycin-äthylester zu einem definierten Produkt führt. Die Umsetzung wurde zuerst bei -35° ausgeführt und anschließend bei Raumtemperatur. Nach Abtrennung der ätherschwerlöslichen Anteile wurde das ölige Reaktionsprodukt in Tetrahydrofuran aufgenommen und durch Zugabe von Petroläther und Äther wieder ausgefällt. Das Öl war in Methanol, Äthanol, Essigester und Chloroform leicht und in Äther und Petroläther schwer löslich. Der Rf-Wert lag zwischen

0.55 und 0.93. Das Chromatogramm war fast frei von Methionin.

Nach Behandeln mit alkoholischer Salzsäure lag der Rf-Wert bei 0.58 bis 0.928; das Chromatogramm zeigte außerdem (schwach angefärbt) den Rf-Wert des Methionins (0.317).

Weiterhin wurde versucht, ob sich das Reaktionsprodukt aus Methionin und Chloral durch Behandeln mit Diazomethan in eine beständigere methylierte Verbindung überführen ließe. Bei dieser Reaktion zerfiel jedoch das Produkt alsbald und es schied sich fortlaufend Methionin ab.

6.5 Umsetzungen von (L)Phenylalanin mit Chloral

6.5a in Gegenwart von Eisessig

3.30 g (20 mMol) (L)Phenylalanin wurden mit 4 ccm (40 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.2 ccm (3.4 mMol) Eisessig gut durchgerieben. Nach 30 Min. war eine Erwärmung des Reaktionsgemisches wahrnehmbar. Das nach 24 Stdn. körnig erstarrte Produkt wurde nach 15 Tagen mit Tetrachlorkohlenstoff durchgerieben. Das Reaktionsprodukt nahm grosse Mengen des Lösungsmittels unter Quellung auf. Aus der, von einem unlöslichen Rückstand abgetrennten, Tetrachlorkohlenstoff-Lösung kristallisierten lange, farblose, glasfaserähnliche Fäden, so daß der gesamte Kolbeninhalt erstarrte.

Die Substanz war in Äthanol $^{+}$, Dioxan und Toluol leicht, in Methanol $^{+}$, tert. Butanol $^{+}$, Äther $^{+}$, Essigester, Chloroform und Xylol mäßig und in Wasser $^{+}$, Petroläther, Cyclohexan und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich ($^{+}$ unter fortlaufender Zersetzung zur Aminosäure). Die toluolische Lösung war einigermaßen haltbar. Bei Zugabe von Äthanol zur Tetrachlorkohlenstoff-Lösung scheidet sich augenblicklich Phenylalanin ab. Das faserige Produkt konnte bisher nicht zur Analyse gereinigt werden.

Unter dem Schmelzpunktsmikroskop lösten sich die langen Fäden bei 145° in Ketten von Plättchen auf. Diese schmolzen bei 205-210° und wurden nach Umfällen aus Wasser/Äthanol durch Analyse als Phenylalanin identifiziert. ($C_9H_{11}NO_2$ Ber. C 65.44, H 6.71, N 8.48; Gef. C 65.93, H 6.78, N 8.31).

6.5b ohne Säureaktivierung

3.30 g (20 mMol) (L)Phenylalanin wurden mit 6 ccm (61 mMol) wasserfreiem Chloral versetzt und gut durchgerieben, da das Gemisch nicht gerührt werden konnte. Nach 8 Tagen wurde das erstarrte Reaktionsgemisch in abs. Äther aufgenommen (starke Quellung) und die Lösung abfiltriert. Aus der ätherischen Lösung fiel langsam ein feines Pulver mit dem Roh-Schmp. 220° (Phenylalanin) aus. Beim Abdunsten des Äthers wurden wenig Nadeln mit dem Roh-Schmp. 144-145° erhalten, die eine stark positive Beilsteinreaktion zeigten. In ätherischer Lösung zersetzten sich die Nadeln unter Bildung von Phenylalanin. Sie hatten die gleichen Löslichkeiten wie die in vorstehendem Versuch erhaltenen Fasern und zerfielen in den dort angegebenen Lösungsmitteln ebenfalls leicht.

6.6 Umsetzung von Acetyl-glycin mit Chloral

1.17 g (10 mMol) Acetyl-glycin wurden unter Rühren mit 3 ccm (30 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.3 ccm (5.2 mMol) Eisessig versetzt, wobei das Acetyl-glycin allmählich in Lösung ging. Nach 29 Tagen war das Reaktionsgemisch erstarrt. Das Produkt wurde mit 96proz. Äthanol durchgerieben und die Lösung in Wasser filtriert. Die Substanz zersetzte sich sowohl in der äthanolischen Lösung, als auch in Wasser. Aus der alkoholischen Lösung wurde Acetyl-glycin zurückerhalten.

6.7 Umsetzung von O-Benzyl-(DL)serin mit Chloral

1.96 g (10 mMol) O-Benzyl-(DL)serin wurden mit 5 ccm (51 mMol) wasserfreiem Chloral und 0.6 ccm (10.5 mMol) Eisessig solange durchgetrieben, bis das Gemisch rührbar wurde. Das Reaktionsprodukt konnte nach 4 Tagen nicht mehr gerührt werden und war nach 32 Tagen gelb und glashart. Das Reaktionsgemisch wurde mit 96proz. Äthanol durchgerieben und die Lösung in Wasser filtriert. Es wurde etwas öliges Produkt und wenig Nadeln mit dem Roh-Schmp. 115-116° erhalten. Das Öl und die Nadeln zersetzten sich langsam in der wässrig-äthanolischen Lösung.

7 Umsetzung von Fluoral mit Glycin

Die Freisetzung und die Umsetzung von Fluoral wurde in einer Spezialapparatur vorgenommen. Diese bestand aus drei Kölbchen (I, II, III), die über eine Schliff-Hahn-Kombination (a-I-b-II-c-III) in direkter

Verbindung standen. Das Reaktionskölbchen I war als Flachkölbchen ausgebildet, so daß - bei gleichzeitiger Kühlung in einem Dewar - von oben magnetisch gerührt werden konnte. Dieses Kölbchen war mit einem Hahn (a) verbunden, der ein mit Blau-Gel gefülltes Trockenrohr trug und nach außen hin zu öffnen war. Zwischen Kölbchen I und II befand sich ein weiteres, durch einen Hahn (d) unterbrochenes, Überleitungssystem, das über Kölbchen II einen Rückflußkühler und ein - mit konz. Schwefelsäure und Quecksilber (Hg katalysiert die Polymerisation des Fluorals) gefülltes - Überdruckventil enthielt. Über Kölbchen III (100 ccm) befand sich ein Tropftrichter mit aufgesetztem Trockenrohr (Blau-Gel-Füllung) und ein Hahn, über den das System mit einer Stickstoff-Bombe verbunden war. Diese Apparatur konnte bis zu einem Innendruck von etwa 100 Torr verwendet werden.

Über die Darstellung von Fluoral aus Trifluoressigsäure vgl. 63,64,65. Das Fluoral wurde aus Fluoralhydrat nach M. BRAID, H. ISERSON und Fr. E. LAWLOR (65) dargestellt. Das Fluoral-hydrat war - im Gegensatz zu einigen Literaturangaben (Schmp. 69-70°; vgl. 65,66) - ein farbloses Öl (Kp. 74-82°/713 Torr, $n_D^{22.5}$ 1,3416, d^{20} 1,2) und wurde durch das 2,4-Dinitrophenylhydrazon (Schmp. 149°) identifiziert.

3,75 g (50 mMol) Glycin wurden in das flache Kölbchen I (vgl. oben) eingefüllt.

Ein Gemisch von 7,6 g Phosphor-(V)-oxyd und 29 ccm konz. Schwefelsäure wurde in einem Scheidetrichter bis zur vollständigen Lösung des Phosphor-(V)-oxydes (exoth. Reakt.) geschüttelt, in das Kölbchen III der Apparatur eingefüllt und unter Stickstoff auf etwa 85° vorgewärmt.

Nachdem innerhalb von 3 Stdn. 12 ccm (150 mMol) Fluoral-hydrat langsam unter Rühren in die Phosphor-(V)-oxyd-Schwefelsäure-Lösung des Kölbchens III eingetropft und das freigesetzte Fluoral, bei geschlossenem Hahn b, im Stickstoffstrom durch den Rückflußkühler geleitet worden war, wurde letzteres bei -70° auf das Glycin in Kölbchen I kondensiert und das Reaktionsgemisch unter Rühren 3 Tage auf etwa -20° gehalten; der gemessene Innendruck der Apparatur lag dabei zwischen 100 und 120 Torr. Nach insgesamt 5 Tagen wurde das nicht umgesetzte Fluoral, bei geöffneten Hähnen b und d, in das auf -70° gekühlte Kölbchen II kondensiert, das Reaktionsgemisch in Kölbchen I mit abs. Äther behandelt und

lufttrocken zurückgewogen. Es blieben 5.61 g eines Produktes zurück, das allmählich in Fluoral und Glycin zerfiel.

Das feinkristalline Roh-Produkt ging beim Erhitzen im Schmelzpunktmikroskop langsam in farnartig verästelte Kristalle über; daneben fand sich noch eine feinkörnige Verbindung. Die farnartigen Kristalle begannen bei 117° zu sintern und zeigten bei 180-185° einen relativ scharfen Umwandlungspunkt. Es bildeten sich neue parallelseitige Plättchen, die sich zwischen 205° und 246° unter Blasenbildung zersetzten. Das feinkörnige Produkt hatte denselben Zers. P. wie die Plättchen (Glycin zersetzt sich bei 232-236°, Glycyl-glycin bei 215-220° (67-69), Triglycin bei 246° (70)).

Als der obige Ansatz unter Zusatz von 0.2 ccm (3.4 mMol) Eisessig oder 50 ccm Toluol mit 0.2 ccm Eisessig durchgeführt wurde, konnte keine Verbesserung erzielt werden.

8 Überführung der Oxazolidon-Derivate in Di- bzw. Tripeptide

8.1 Umsetzungen von Dichloral-glycin mit Glycin-äthylester

8.1a im Molverhältnis 1 : 2.5

3.52 g (10 mMol) Dichloral-glycin wurden in ätherischer Lösung bei 0° mit 2.5 ccm (25 mMol) Glycin-äthylester versetzt und mit abs. Äther auf insgesamt 40 ccm verdünnt. Im Unterschied zu den von R. HEISS gegebenen Bedingungen wurde die Umsetzung bei 0° ausgeführt. Bei dieser Temperatur wird das Reaktionsprodukt sofort kristallin und rein erhalten.

Nach 2 Tagen wurden die ausgeschiedenen Kristalle abgetrennt und mit abs. Äther nachgewaschen. Es wurden 1.85 g (98.3% d. Th.) Nadeln vom Roh-Schmp. 64-65° erhalten. Nach Umfällung aus Essigester/Petroläther und Chloroform/Petroläther lag der Schmp. bei 68-69°, um 3° höher, als R. HEISS angegeben hat. Die Verbindung wurde durch Mischschmelzpunkt mit dem von R. HEISS dargestellten Formyl-glycyl-glycin-äthylester identifiziert.

8.1b in Gegenwart von Pyridin (VI)

3.51 g (10 mMol) Dichloral-glycin wurden in ätherischer Lösung bei 0° mit 1.2 ccm (10 mMol) Glycin-äthylester und 0.8 ccm (10 mMol)

Pyridin umgesetzt. Nach 62 Stdn. kristallisierten lange, starke Nadeln aus, die nach 7 Tagen abfiltriert wurden. Die Ausbeute betrug 2.08 g (36.5% d.Th.). Der Schmp. lag bei 110-111°.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol und Äthanol leicht, in Äther und Tetrahydrofuran mäßig und in Petroläther, Essigester und Chloroform schwer löslich. Beim Versuch, die Substanz vom Schmp. 110-111° umzukristallisieren, zerfiel sie in Pyridin und Dichloral-glycin, das durch Mischschmelzpunkt identifiziert wurde.

Zur Analyse wurde die Verbindung kurz mit Äthanol und Petroläther gewaschen. Die Substanz wurde zunächst im Exsiccator und dann im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

Je nach der Zeit der Hochvakuumtrocknung wurden die Analysen I (16 Stdn.) bzw. II (72 Stdn.) erhalten. Die Kristalle der Verbindung II machten einen verwitterten Eindruck.

4.504 mg Substanz, 5.20 mg CO_2 1.62 mg H_2O

$C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5 \cdot 2\ H_2O$ (570.1) I

Ber. C 31.60 H 4.07 Cl 37.32 N 7.37 C_2H_5O 7.90
Gef. 31.51 4.02

3.426 mg Substanz, 0.223 ccm N_2 bei 24.3° und 764 Torr
3.710 mg Substanz, 4.284 ccm 0.01n $AgNO_3$
4.947 mg Substanz, 2.90 ccm 0.02n $Na_2S_2O_3$

$C_{15}H_{19}Cl_6N_3O_5$ (534.07) II

Ber. C 33.73 H 3.59 Cl 39.83 N 7.87 C_2H_5O 8.44
Gef. 40.56 7.51 8.80

Eine geringe Menge Formyl-glycyl-glycin-äthylester (318.9 mg; 17% d.Th.) vom Schmp. 65-67° wurde aus dem Filtrat der oben besprochenen Pyridinverbindung erhalten; dieser wurde durch Mischschmelzpunkt identifiziert.

8.1 c in Gegenwart von Triäthylamin

1.17 g (3.3 mMol) Dichloral-glycin wurden bei 0° in ätherischer Lösung mit 0.4 ccm (3.3 mMol) Glycin-äthylester und 0.5 ccm (3.3 mMol) Triäthylamin versetzt. Nach eintägigem Stehen kristallisierte das Produkt

in feinen Nadeln. Nach 3 Tagen wurde die überstehende Lösung abfiltriert und die Kristalle mit Petroläther gewaschen.

Aus Essigester/Petroläther wurden 601.5 mg (97.7% d. Th.) der Formylverbindung mit einem Schmp. von 68-69° erhalten. Die Substanz wurde durch Mischschmelzpunkt mit dem nach 8.1 a erhaltenen Produkt identifiziert.

Aus dem Filtrat des Formyl-glycyl-glycin-äthylesters kristallisierten allmählich lange Nadeln vom Sublimationsp. 190°, die im Mischschmelzpunkt mit Triäthylamin-hydrochlorid keine Depression gaben.

6.138 mg Substanz, 0.555 ccm N_2 bei 22° und 727 Torr

$C_6H_{16}ClN$ (137.6) Ber. N 10.18
Gef. 10.01

Führt man die oben angegebene Reaktion bei Raumtemperatur aus, so wird nur ein öliges Produkt erhalten, das sehr viel Triäthylamin-hydrochlorid enthält.

8.2 Formyl-O-methylchloral-glycyl-glycin-äthylester (XIII a)

682 mg (2 mMol) O-Methyl-dichloral-glycin, in etwa 20 ccm Äther gelöst, wurden unter Schütteln mit 0.5 ccm (4 mMol) Glycin-äthylester versetzt. Nach siebentägigem Stehen wurden 644.8 mg (99% d. Th.) einer in Nadeln kristallisierenden und bei 132-133° schmelzenden Verbindung erhalten.

Die Substanz ist in Methanol, heißem Äthanol, Essigester, Tetrahydrofuran und Chloroform leicht, in kaltem Äthanol mäßig und in Wasser, Äther und Petroläther schwer löslich.

Zur Analyse wurde aus Chloroform / Petroläther umkristallisiert, wobei sich der Schmp. nicht mehr änderte.

4.374 mg Substanz, 5.54 mg CO_2 1.74 mg H_2O
4.093 mg Substanz, 0.305 ccm N_2 bei 21° und 720 Torr

$C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_5$ (349.6) Ber. C 34.35 H 4.30 N 8.01
Gef. 34.56 4.45 8.20

8.3a Verseifung des Formyl-glycyl-glycin-äthylesters zum Dipeptid-ester-hydrochlorid

R. HEISS hat zur Abspaltung der Formylgruppe 1n alkoholische Salzsäure verwendet. Bei den im folgenden beschriebenen Verseifungen wurde n/2 alkoholische Salzsäure benutzt. Diese Verseifung wurde am Formyl-glycyl-glycin-äthylester ausgearbeitet.

500 mg (26 mMol) Formyl-glycyl-glycin-äthylester (nach 8.1 c hergestellt) wurden mit 9.6 ccm (52 mMol) n/2 alkohol. Salzsäure versetzt. Die Formylverbindung ging dabei in Lösung. Nach 1 Tag wurde zur alkoholischen Lösung abs. Äther bis zur Trübung hinzugegeben. Das Produkt kristallisierte in Form von feinsten Nädelchen. Es wurden 468.3 mg (89.6% d. Th.) Dipeptid-ester-hydrochlorid vom Schmp. 184° erhalten.

Das Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid wurde durch Mischschmelzpunkt mit einem Präparat von R. HEISS identifiziert.

8.3b Verseifung des Formyl-O-methylchloral-glycyl-glycin-äthylesters zum Dipeptid-ester-hydrochlorid

480 mg (14 mMol) Formyl-O-methylchloral-glycyl-glycin-äthylester wurden mit 3 ccm (14 mMol) n/2 alkohol. Salzsäure versetzt und durch mäßiges Erwärmen in Lösung gebracht. Nach 20 Stdn. wurde der Alkohol fast vollständig abgezogen und das Dipeptid-ester-hydrochlorid durch Zugabe von abs. Äther ausgefällt. Es wurden 240.4 mg (89.1% d. Th.) Nadeln erhalten, die bei 183-184° schmolzen.

Die Substanz wurde aus Äthanol/Äther umgefällt; sie zeigte im Mischschmelzpunkt mit Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid keine Depression.

8.4 Überführung des Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorids in Glycyl-glycin

In eine Aufschlämmung von 1.88 g (10 mMol) Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid (nach 8.3b erhalten) in 40 ccm Chloroform wurde bei 0° 15 Min. lang trockenes Ammoniak (3 Blasen/2 Sek.) eingeleitet. Das Ende der Reaktion ließ sich am Ausflocken des sich bildenden Ammoniumchlorids erkennen. Das Ammoniumchlorid (496.1 mg; 96.8% d. Th.) wurde abfiltriert und die Lösung auf etwa 10 ccm eingeengt. Bei Zugabe von Petroläther bildete sich ein feinkristalliner Niederschlag. Der Schmelzpunkt

des feinkristallinen Produktes, 1.4 g (91.3% d.Th.), lag bei 82-83° und stieg durch Umkristallisation aus Chloroform/Petroläther auf 85-86°. Im Gemisch mit Glycyl-glycin-äthylester ergab die Verbindung keine Schmelzpunkt-Depression.

Eine Suspension von 1.4 g (9.1 mMol) Glycyl-glycin-äthylester (oben erhalten) in 12 ccm (10 mMol) 1n Natronlauge wurde 10 Min. geschüttelt; dabei ging der Dipeptidester in Lösung.

Nach 30 Min. wurden 12 ccm (10 mMol) 1n Salzsäure zugesetzt, die Lösung im Exsiccator eingeengt und das Produkt in wenig Wasser aufgenommen. Bei Zugabe von 96proz. Äthanol fielen 1.13 g (98.1% d.Th.) des in Plättchen kristallisierenden Glycyl-glycins aus. Der Zers.P. lag - ebenso, wie in der Literatur angegeben - bei 215-220° (vgl. 67-69). Zur Reinigung wurde das Dipeptid zweimal aus Wasser/Äthanol umkristallisiert.

Die Papierchromatographie wurde in Butanol/Eisessig/Wasser (Molverhältnis 4 : 1 : 1) in der Horizontalkammer nach W.GRASSMANN und R.STROBEL (71), unter Verwendung des Papiers von Schleicher u. Schüll 2043b, ausgeführt. Das Glycyl-glycin hatte einen Rf-Wert von 0.042 (18°, Laufzeit 18 Stdn.) und war chromatographisch rein.

8.5 Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester

700.9 mg (2 mMol) Dichloral-glycin wurden in 20 ccm abs. Äther gelöst und in dieser Lösung 989.6 mg (5 mMol) Glycyl-glycin-äthylesterhydrochlorid aufgeschlämmt. Im Verlauf von einer Stunde wurde eine Lösung von 1.5 ccm (10 mMol) Triäthylamin in 8.5 ccm abs. Äther unter Rühren zugetropft. Nach 30 Stdn. hatten sich 1.21 g Kristalle abgeschieden, die mit Äther gewaschen wurden und anschließend - zur Entfernung des Triäthylamin-hydrochlorids - mit Chloroform. Es ließen sich 447.5 mg Rohprodukt vom Schmp. 157-158° isolieren.

Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol wurden 307.9 mg (79.5% d.Th., bez. auf Dichloral-glycin) Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester vom Schmp. 164° erhalten.

Der Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester ist in Wasser und heißem Äthanol leicht, in Essigester, kaltem Äthanol und Äther mäßig und in

Petroläther, Tetrahydrofuran, Dioxan und Chloroform schwer löslich.

a) 2.930 mg Substanz, 4.730 mg CO_2 1.650 mg H_2O
4.242 mg Substanz, 0.647 ccm N_2 bei 26° und 722 Torr
b) 2.780 mg Substanz, 4.510 mg CO_2 1.490 mg H_2O
3.178 mg Substanz, 0.490 ccm N_2 bei 23° und 728 Torr

$C_9H_{15}N_3O_5$ (245.2)	Ber.	C 44.08	H 6.17	N 17.14
	Gef. a)	44.05	6.30	16.54
	b)	44.27	6.00	17.03

Bei der Reinigung des Formyl-tripeptid-esters fielen 52.7 mg parallelseitiger Plättchen an, die in kaltem Wasser und Äthanol schwer löslich waren und bei 308-315° unter Zersetzung schmolzen. Die Verbindung hat die Summenformel $C_4H_6N_2O_2$, die auf Diketopiperazin stimmt.

$C_4H_6N_2O_2$ (114.1)	Ber.	C 42.10	H 5.30	N 24.55
	Gef.	42.62	5.38	24.63

8.6 Überführung des Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylesters in Glycyl-glycyl-glycin

142.3 mg (0.6 mMol) Formyl-glycyl-glycyl-glycin-äthylester wurden mit 2 ccm (6 mMol) n/2 alkoholischer Salzsäure versetzt. Nach einigen Minuten begann die Substanz sich zu lösen; nach 3 Tagen war die Lösung klar. Bei Zugabe von Äther kristallisierten 128.5 mg (90.3% d.Th.) Glycyl-glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid vom Roh-Schmp. 190° aus. Zur Analyse wurde aus heißem Äthanol umkristallisiert und aus Äthanol/Äther umgefällt, wobei der Schmp. auf 214-215° stieg. (vgl. 35, 70).

a) 3.230 mg Substanz, 4.460 mg CO_2 1.910 mg H_2O
2.958 mg Substanz, 0.430 ccm N_2 bei 28° und 719 Torr
b) 3.078 mg Substanz, 4.310 mg CO_2 1.830 mg H_2O
3.188 mg Substanz, 0.479 ccm N_2 bei 25° und 724 Torr

$C_8H_{16}ClN_3O_4$ (253.7)	Ber.	C 37.87	H 6.36	N 16.56
	Gef. a)	37.68	6.62	15.60
	b)	38.21	6.65	16.40

In eine Aufschlämmung von 77.6 mg (0.3 mMol) Glycyl-glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid in 25 ccm Chloroform wurde bei 0° 10 Minuten

lang trockenes Ammoniak (3 Blasen/2 Sek.) eingeleitet. Die Lösung des Esters wurde vom gebildeten Ammoniumchlorid abfiltriert und auf etwa 5 ccm eingeengt. Bei Zugabe von Petroläther schieden sich kleine Plättchen ab.

Es wurden 53.9 mg (93.2% d. Th.) Glycyl-glycyl-glycin-äthylester mit dem Roh-Schmp. 205° erhalten. Die Verbindung wurde aus Chloroform/Petroläther umgefällt, wobei der Schmp. auf 208-210° stieg. Der Tripeptid-ester ist in Chloroform leicht, in Essigester mäßig und in Äther, Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Da der Ester sehr leicht kondensiert, wurde er sofort zum Tripeptid verseift.

53.9 mg (0.25 mMol) Glycyl-glycyl-glycin-äthylester wurden mit 3.2 ccm (0.3 mMol) n/10 Natronlauge versetzt und kurz geschüttelt, wobei der Tripeptid-ester in Lösung ging.

Nach 20 Min. wurden 3.2 ccm (0.3 mMol) n/10 Salzsäure zugesetzt und die Lösung an der Brücke (Bad 30°) auf etwa 1.5 ccm eingeengt. Bei Zugabe von 96proz. Äthanol kristallisierten 45.2 mg (96.2% d. Th.) Glycyl-glycyl-glycin in feinsten Nädelchen mit dem Roh-Zers. P. 225° aus. Durch Umfällen aus Wasser/Äthanol konnte der Zers. P. auf 230° (Lit. 246°) (70) gebracht werden.

Das Chromatogramm des erhaltenen Glycyl-glycyl-glycins wurde, wie auf Seite 40 beschrieben, durchgeführt und zeigte, daß die Verbindung frei von Glycin und Glycyl-glycin war. Der Rf-Wert lag bei $2.17 \cdot 10^{-2}$. Für das mitlaufende Glycyl-glycin und Glycin wurden die Rf-Werte $4.22 \cdot 10^{-2}$ bzw. $4.45 \cdot 10^{-2}$ gefunden.

Allerdings waren die Analysen-Werte nicht befriedigend. Die Reaktion müßte mit einer größeren Substanzmenge wiederholt werden.

3.010 mg Substanz, 4.130 mg CO_2 1.600 mg H_2O
3.286 mg Substanz, 0.637 ccm N_2 bei 24° und 716 Torr

$C_6H_{11}N_3O_4$ (189.2)	Ber.	C 38.09	H 5.86	N 22.21
	Gef.	C 37.44	5.95	20.99

9.1 Umsetzungen von Dichloral-(DL)alanin mit Glycin-äthylester

9.1a im Molverhältnis 1 : 2.5

3.65 g (10 mMol) Dichloral-(DL)alanin, gelöst in 75 ccm abs. Äther, wurden mit 2.5 g (25 mMol) Glycin-äthylester versetzt. Beim Stehen über Nacht kristallisierten 1.29 g (67.9% d.Th.) Formyl-(DL)alanyl-glycin-äthylester in langen, farblosen Nadeln vom Roh-Schmp. 90° aus. Den Schmp. für diese Verbindung hat R. HEISS mit 91-92° angegeben.

Die Substanz ist in Wasser, Methanol, Äthanol, Chloroform und heißem Essigester leicht, in kaltem Essigester mäßig und in Äther und Petroläther schwer löslich. Zur Analyse wurde aus Chloroform/Petroläther umgefällt, wobei der Schmp. nicht stieg. Die Verbindung hatte die Zusammensetzung von Formyl-alanyl-glycin-äthylester.

4.795 mg Substanz, 8.37 mg CO_2 2.96 mg H_2O
4.691 mg Substanz, 0.568 ccm N_2 bei 22° und 755 Torr

$C_8H_{14}N_2O_4$ (202.2)	Ber.	C 47.51	H 6.98	N 13.85
	Gef.	47.64	6.91	13.91

9.1b in Gegenwart von Pyridin

3.66 g (10 mMol) Dichloral-(DL)alanin in 75 ccm abs. Äther wurden bei 0° mit 1.2 ccm (10 mMol) Glycin-äthylester und 0.8 ccm (10 mMol) Pyridin versetzt. Bei Zugabe des Esters trübte sich die Lösung. Nach etwa 20 Stdn. zeigte sich die erste Kristallisation.

Bei der Aufarbeitung (siehe 8.1a) nach 11 Tagen wurden 717.4 mg (35.5% d.Th.) Nadeln vom Roh-Schmp. 85° erhalten. Nach der Umfällung aus Essigester/Petroläther lag der Schmp. bei 90°.

Die Verbindung wurde durch Mischschmelzpunkt mit der nach 9.1a erhaltenen identifiziert.

9.1c in Gegenwart von Triäthylamin

932.3 mg (2.5 mMol) Dichloral-(DL)alanin wurden mit 0.26 g (0.3 ccm; 2.5 mMol) Glycin-äthylester und 0.26 g (0.4 ccm; 2.5 mMol) Triäthylamin in ätherischer Lösung bei 0° umgesetzt. Nach 8 Tagen schied sich das Reaktionsprodukt in Nadelpolstern ab.

Bei der Aufarbeitung (siehe 8.1 a) nach 17 Tagen wurden 255.3 mg (49.5% d. Th.) Nadeln mit dem Roh-Schmp. 88-89° erhalten. Nach der Umfällung aus Essigester/Petroläther lag der Schmp. bei 90°. Das Produkt zeigte keine Schmelzpunkt-Depression mit der nach 9.1 a erhaltenen Verbindung.

Aus der Mutterlauge kristallisierten allmählich 303.1 mg (85.7% d. Th.) Triäthylamin-hydrochlorid aus.

9.2 Formyl-O-methylchloral-(DL)alanyl-glycin-äthylester

1.24 g (3.3 mMol) O-Methyl-dichloral-(DL)alanin wurden in ätherischer Lösung bei 0° mit 1 ccm (10 mMol) Glycin-äthylester versetzt. Nach 12 Tagen wurde der Äther abgezogen und das anfallende gelbe Öl durch Zugabe von wenig Essigester und etwa 10 ccm abs. Äther zur Kristallisation gebracht. Es wurden 909 mg (76.4% d. Th.) einer in regelmäßig-rechteckigen Platten kristallisierenden Verbindung mit dem Roh-Schmp. 104-105° erhalten.

Die Substanz ist in Methanol leicht, in Äthanol, Chloroform und Essigester mäßig und in Äther, Petroläther und Wasser schwer löslich.

Zur Analyse wurde die Verbindung aus Essigester/Petroläther und Chloroform/Petroläther umkristallisiert. Die Substanz hatte einen Rein-Schmp. von 106-107° und die Zusammensetzung von Formyl-O-methyl-chloral-(DL)alanyl-glycin-äthylester.

3.026 mg Substanz, 4.095 mg CO_2 1.309 mg H_2O
5.328 mg Substanz, 7.140 mg CO_2 2.420 mg H_2O
3.055 mg Substanz, 0.199 ccm N_2 bei 25.7° und 764 Torr

$C_{11}H_{17}Cl_3N_2O_5$ (363.6)	Ber.	C 36.33	H 4.71	N 7.70
	Gef.	36.93	4.84	7.48
		36.57	5.08	

9.3 Formyl-(DL)alanyl-glycyl-glycin-äthylester

In eine Lösung von 2.44 g (6 mMol) Dichloral-(DL)alanin in 50 ccm abs. Äther wurden 3.0 g (15 mMol) Glycyl-glycin-äthylester-hydrochlorid gegeben. Die Suspension wurde mit Methanol/Trockeneis auf -35° gekühlt und innerhalb einer halben Stunde mit einer Lösung von 4.5 ccm (32 mMol) Triäthylamin in 5.5 ccm abs. Äther tropfenweise unter Rühren versetzt.

Etwa nach 90 Min. begann die Abscheidung von Kristallen. Nach 3 Tagen wurde die überstehende Lösung abfiltriert und das kristalline Reaktionsprodukt mit Äther gewaschen.

Das Rohprodukt (3.54 g) wurde dreimal mit Essigester digeriert, wobei 359 mg Nadeln vom Zers. P. 244° ungelöst zurückblieben (wahrscheinlich Alanin-hydrochlorid). Die Essigester-Lösung wurde bis zur Trübung mit Petroläther versetzt. Beim Stehen über Nacht kristallisierten 146.1 mg Nädelchen (Formyl-(DL)alanyl-glcycl-glycin-äthylester) mit dem Roh-Schmp. 118-120° aus.

Zur Abtrennung des Triäthylamin-hydrochlorids wurde die Mutterlauge eingeengt (3.04 g blaßgelbes, ölig-kristallines Produkt), der Rückstand in Essigester aufgenommen und das zurückbleibende Triäthylamin-hydrochlorid abfiltriert. Nach Einengen des Filtrats zur Trockne wurde der Rückstand mit Tetrahydrofuran digeriert, wobei 2.09 g Triäthylamin-hydrochlorid ungelöst zurückblieben.

Die Tetrahydrofuran-Lösung wurde eingeengt, der Rückstand (950.4 mg) in Methanol aufgenommen und die Lösung langsam mit abs. Äther versetzt (wahrscheinlich läßt sich die Abtrennung von Triäthylamin-hydrochlorid vereinfachen). Es wurden weitere 930 mg Formyl-tripeptid-ester erhalten. Die Gesamtausbeute an Formyl-(DL)alanyl-glycyl-glycin-äthylester betrug 1.076 g (62.3% d. Th.).

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol, Äthanol, heißem Essigester und Dimethylformamid leicht, in kaltem Essigester, Chloroform, Tetrahydrofuran und Dioxan mäßig und in Äther, Petroläther, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol und Toluol schwer löslich.

Zur Analyse wurde wiederholt aus Methanol/Äther umkristallisiert, wobei der Schmp. auf 129-130° stieg. Die Verbindung hatte die Zusammensetzung von Formyl-(DL)alanyl-glycyl-glycin-äthylester.

3.082 mg Substanz, 5.230 mg CO_2 1.880 mg H_2O
2.241 mg Substanz, 0.333 ccm N_2 bei 23° und 714 Torr

$C_{10}H_{17}N_3O_5$ (259.3)	Ber.	C 46.32	H 6.61	N 16.21
	Gef.	46.31	6.82	16.10

10 Umsetzungen von Dichloral-(L)alanin

10.1 Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylester

1.83 g (5 mMol) Dichloral-(L)alanin, welches nach 3 unter Säurekatalyse hergestellt worden war, wurden mit 1.5 ccm (15 mMol) Glycinäthylester in ätherischer Lösung bei 0° umgesetzt. Nach 46 Stdn. war fast das ganze Flüssigkeitsvolumen mit langen Nadeln ausgefüllt. Nach 4 Tagen wurden die Kristalle mit Äther gewaschen. Die Ausbeute betrug 817.2 mg (80.8% d.Th.). Der Schmp. lag bei 115-116°.

Zur Analyse wurde aus Chloroform/Petroläther umkristallisiert, wobei der Schmp. sich nicht änderte. Die Verbindung hat die Zusammensetzung von Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylester.

3.434 mg Substanz, 5.968 mg CO_2 2.193 mg H_2O
3.272 mg Substanz, 0.391 ccm N_2 bei 25.6° und 764 Torr

$C_8H_{14}N_2O_4$ (202.2)	Ber.	C 47.51	H 6.98	N 13.85
	Gef.	47.43	7.15	13.73

10.2 Überführung des Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylesters in (L)Alanyl-glycin

490.7 mg (2 mMol) Formyl-(L)alanyl-glycin-äthylester wurden mit 9 ccm (2 mMol) n/2 alkoholischer Salzsäure versetzt. Die Lösung färbte sich nach 5 Min. blaßgelb. Nach 20 Stdn. wurde das Volumen auf etwa 1/3 eingeengt. Durch Zugabe von abs. Äther ließen sich 460 mg (90% d.Th.) des Dipeptid-ester-hydrochlorids als farbloses Öl abscheiden. Da dieses nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde es zum Dipeptid-ester weiterverarbeitet.

Eine Aufschlämmung von 460 mg (2 mMol) (L)Alanyl-glycin-äthylester-hydrochlorid in 10 ccm Chloroform wurde bei 0° so lange mit trockenem Ammoniak versetzt, bis das sich bildende Ammoniumchlorid ausflockte.

Es wurden 116.5 mg (ber. 116.8 mg) Ammoniumchlorid erhalten. Die Ausbeute an (öligem) (L)Alanyl-glycin-äthylester betrug 351.9 mg (92.5% d.Th.). Der ölige Dipeptidester wurde ins Dipeptid übergeführt.

351.9 mg (2 mMol) (L)Alanyl-glycin-äthylester wurden mit 2.45 ccm (2 mMol) 1n Natronlauge versetzt und 10 Min. geschüttelt, wobei allmählich Lösung eintrat. Nach 30 Min. wurden 2.45 ccm (2 mMol) 1n Salzsäure zugesetzt und die Lösung eingeengt. Das Produkt wurde in wenig Wasser aufgenommen und mit 96proz. Äthanol wieder ausgefällt.

Es wurden 295 mg (99.5% d.Th.) eines feinkörnigen Produktes mit dem Roh-Schmp. 254° erhalten.

Zur Analyse wurde die Verbindung zweimal aus Wasser/Äthanol umkristallisiert. Die reine Substanz zeigte einen Zers.P. von 256°. E. FISCHER u. O.WARBURG (72) geben den Zers.P. für (L)Alanyl-glycin mit 256° (korr.) an.

3.110 mg Substanz, 4.718 mg CO_2 1.902 mg H_2O
3.315 mg Substanz, 0.543 ccm N_2 bei 26° und 764 Torr

$C_5H_{10}N_2O_3$ (146.1) Alanyl-glycin

Ber.	C 41.09	H 6.90	N 19.17
Gef.	41.40	6.84	18.80

Die Papierchromatographie wurde unter den gleichen Bedingungen, wie bei 8.4 auf Seite 39 beschrieben, vorgenommen (Rf-Wert: 0.103 bei 16°; Laufzeit: 18 Stdn.). Die Verbindung erwies sich als chromatographisch einheitlich und enthielt weder Alanin noch Glycin.

Die optische Drehung wurde mit Hilfe des Kreis-Polarimeters 0.01° der Firma Zeiss/Winkel, Göttingen, bestimmt.

$$[\alpha]_D^{26.4} = +50.27 \pm 0.02° \quad (c = 7.34;\ H_2O)$$

Für die Drehung in Wasser fanden:

E.FISCHER (73)	$[\alpha]_D^{20} = +50.2$
E.FISCHER (74)	$[\alpha]_D^{18} = +50.3$
B.F.ERLANGER u. E.BRAND (75)	$[\alpha]_D^{20} = +50.6$

(vgl. auch 16, 68, 69, 76, 77).

11 Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin

11.1 Umsetzungen mit Butylamin

11.1a im Molverhältnis 1 : 0.9 (VII a)

606.4 mg (1.6 mMol) Dichloral-(DL)serin, gelöst in 20 ccm abs. Äther, wurden unter Rühren innerhalb von 30 Min. mit einer Lösung von 105.3 mg (1.4 mMol) Butyl-amin in 20 ccm abs. Äther versetzt. Das Gemisch blieb 7 Tage bei Raumtemperatur verschlossen stehen. Nach dieser Zeit hatte sich nur eine geringe Menge von Kristallen abgeschieden. Erst nach Eindunsten der ätherischen Lösung auf etwa 25 ccm schieden sich lange Nadeln (346.3 mg) vom Roh-Schmp. 113-117° ab.

Zur Reinigung wurde die Verbindung in siedendem Äthanol gelöst und tropfenweise mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Die erhaltenen blättchenförmigen Kristalle zeigten einen Schmp. von 110-111°, der sich bei weiterem Umkristallisieren nicht änderte.

Auf Grund der Analyse liegt ein Substanzgemisch vor, dessen Komponenten mit Hilfe eines Diagrammes, in das die Zusammensetzung der möglichen Verbindungen eingesetzt worden war, festgestellt wurden.

2.948 mg Substanz, 3.090 mg CO_2 0.870 mg H_2O
3.973 mg Substanz, 0.213 ccm N_2 bei 27° und 715 Torr

(IV) $C_7H_5Cl_6NO_3$ (363.9) Dichloral-serin
Ber. C 23.11 H 1.38 N 3.85

(VII a) $C_{11}H_{16}Cl_6N_2O_3$ (437.0)
Ber. C 30.23 H 3.69 N 6.41

Für ein Verhältnis IV/VII a 21.7 : 78.3 ergibt sich:

Ber. C 28.68 H 3.19 N 5.85
Gef. 28.60 3.30 5.73

Das Ergebnis dieses Versuches konnte nach längerer Zeit nicht mehr mit Sicherheit reproduziert werden; siehe jedoch die unter Katalyse durchgeführten Reaktionen S. 50 und S. 54-57.

11.1b im Molverhältnis 1 : 2,1 (VIII a)

606.4 mg (1.6 mMol) Dichloral-(DL)serin, gelöst in 10 ccm abs. Äther, wurden unter Rühren allmählich mit einer Lösung von 0.35 ccm (3.5 mMol) Butylamin in 10 ccm abs. Äther versetzt. Nach 4 Wochen wurde die überstehende Lösung vom abgeschiedenen Öl abgetrennt, auf etwa 1/5 des Volumens eingeengt und mit tiefs. Petroläther weiteres öliges Produkt ausgefällt. Durch Behandeln des Öls mit abs. Äther wurden 447.2 mg (84.5% d. Th.) eines in lanzettartigen Nadeln kristallisierenden Produktes mit dem Schmp. 138.5-139° erhalten.

Die Verbindung ist in Chloroform leicht, in Äthanol, Äther, Essigester, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol mäßig und in Wasser, Methanol und Petroläther schwer löslich.

Zur Analyse wurde das Produkt nacheinander aus Äthanol, Essigester und Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert, wobei der Schmp. sich nicht änderte. Die Analyse b wurde mit einem Präparat erhalten, das in einem neuen Ansatz hergestellt worden war.

a) 3.074 mg Substanz, 4.348 mg CO_2 1.400 mg H_2O
3.457 mg Substanz, 0.263 ccm N_2 bei 24.6° und 763 Torr
6.170 mg Substanz, 5.787 ccm 0.01n $AgNO_3$

b) 3.733 mg Substanz, 5.210 mg CO_2 1.630 mg H_2O
3.839 mg Substanz, 0.297 ccm N_2 bei 27° und 723 Torr

(VIII a) $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$ (317.6)

Ber.	C	37.81	H	4.76	Cl	33.49	N 8.82
Gef. a)		38.60		5.09		33.30	8.76
b)		38.09		4.89			8.37

Das Ergebnis dieses Versuches konnte nach längerer Zeit nicht mehr mit Sicherheit wiederholt werden; siehe jedoch die unter Katalyse durchgeführte Reaktion S. 50.

11.1c im Molverhältnis 1 : 3

579.6 mg (1.6 mMol) Dichloral-(DL)serin wurden in 20 ccm abs. Äther gelöst und mit 0.5 ccm (5 mMol) Butylamin unter Rühren versetzt. Nach 5 Min. wurde die Lösung trüb und es schied sich allmählich ein kristallines Produkt aus. Der Rührer wurde nach 1.5 Stdn. abgestellt

und das Gemisch nach 18 Stdn. mit Petroläther versetzt. Die ausgefallenen Plättchen (215 mg; 84.2% d. Th., ber. für Seryl-butylamid) hatten einen Schmp. von 88-90°.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol, Äthanol und Chloroform leicht, in Äther und Essigester mäßig und in Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Zur Analyse wurde aus Chloroform/Petroläther umkristallisiert, wobei der Schmp. auf 90-91° stieg. Die Analyse ergab Werte, die zu keiner der möglichen Verbindungen stimmte; sie kommen denen für Seryl-butylamid am nächsten. Da die Substanz vom Schmp. 90-91° in späteren Ansätzen nicht mehr erhalten wurde, kann nicht festgestellt werden, ob ein Analysenfehler oder eine unreine Substanz vorlag.

2.910 mg Substanz, 5.700 mg CO_2 2.390 mg H_2O
3.553 mg Substanz, 0.566 ccm N_2 bei 23° und 720 Torr

(IX a) $C_7H_{16}N_2O_2$ (160.2) Seryl-butylamid

Ber. C 52.47 H 10.07 N 17.49
Gef. 53.45 9.19 17.43

$C_7H_{14}N_2O_2$ (158.2)

Ber. C 53.14 H 8.92 N 17.71

In Ansätzen mit mehr Butylamin wurden - bei geringeren Ausbeuten - unreinere Produkte erhalten. Die Reaktion konnte auch in einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff und Äther durchgeführt werden; allerdings wurden auch in diesem Fall geringere Ausbeuten erzielt.

11.1 d in Gegenwart von festem Kaliumhydroxyd

In einem nach 11.1 c angesetzten Reaktionsgemisch zeigte sich im Unterschied zu diesem auch nach 5 Stdn. keine kristalline Abscheidung. Innerhalb einer weiteren Stunde wurde nochmals eine Lösung von 1 ccm (10 mMol) Butylamin in 9 ccm abs. Äther zugetropft; die Lösung blieb klar. Nun wurden 20 ccm Petroläther hinzugefügt, da das in Versuch 11.1 c erhaltene Reaktionsprodukt in diesem Lösungsmittel schwer löslich ist; auch jetzt schied sich kein Niederschlag ab.

Nach 24 Stdn. wurde eine Ätzkali-Pastille zugefügt, wobei augenblicklich die Abscheidung von lanzettförmigen, flachen Nadeln einsetzte (390.2 mg, Roh-Schmp. 137-138°; 75% d.Th., ber. auf VIII a). Durch Umkristallisation aus Essigester und Äthanol stieg der Schmp. auf 139°. Die Verbindung gab im Mischschmelzpunkt keine Depression mit der gleichschmelzenden, nach 11.1b dargestellten, Verbindung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$.

In einem Parallelansatz wurde Dichloral-serin, das mit Aktivkohle gereinigt worden war, mit Butylamin im Molverhältnis 1 : 3 unter den obigen Bedingungen umgesetzt. Als nach einer Stunde noch keine sichtbare Reaktion eintrat, wurde versucht, die Umsetzung durch Zugabe von Triäthylamin und - 30 Min. später - eines Tropfens Wasser in Gang zu bringen. Da sich kein Reaktionsprodukt abschied, wurde wieder eine Ätzkali-Pastille zugesetzt. Nach Animpfen der Lösung, mit der oben dargestellten Verbindung vom Schmp. 139°, kristallisierte die Verbindung $C_{10}H_{15}Cl_3N_2O_3$ augenblicklich aus. Die Ausbeute betrug in diesem Fall 522.5 mg (98.3% d.Th.).

11.2 Umsetzungen mit Benzylamin

11.2a im Molverhältnis 1 : 1.1 (VII b)

607.3 mg (1.7 mMol) Dichloral-(DL)serin, gelöst in 10 ccm abs. Äther, wurden unter Rühren bei 40° allmählich mit einer Lösung von 0.2 ccm (1.8 mMol) Benzylamin in 10 ccm abs. Äther versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde noch 54 Stdn. auf 40° gehalten. (An den Wandungen zeigte sich eine sehr geringe Abscheidung eines feinkristallinen Produktes, das in Wasser leicht löslich war und mit Silbernitrat eine stark positive Reaktion gab). Nach 17 Tagen wurde die Lösung abfiltriert, auf etwa 1/3 des Volumens eingeengt und tiefs. Petroläther hinzugegeben. Dabei schieden sich 380.5 mg einer in Nadeln kristallisierenden Verbindung mit dem Schmp. 145-146° ab.

Das Reaktionsprodukt ist in Äthanol, Äther, Essigester, Chloroform und Dimethylformamid mäßig und in Wasser, Methanol, Petroläther, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol schwer löslich.

Durch Umkristallisieren ließ sich keine Reinigung erzielen. Auf Grund der Analyse liegt ein Substanzgemisch vor, dessen mögliche Zusammensetzung mit Hilfe eines Diagrammes berechnet wurde.

2.856 mg Substanz, 3.855 mg CO_2 0.775 mg H_2O
3.399 mg Substanz, 0.181 ccm N_2 bei 24.6° und 751 Torr
4.193 mg Substanz, 4.955 ccm 0.01n $AgNO_3$

(VII b) $C_{14}H_{14}Cl_6N_2O_3$ (471.0)

Ber. C 35.70 H 3.00 Cl 45.17 N 5.95

(VIII b) $C_{13}H_{13}Cl_3N_2O_3$ (351.6)

Ber. C 44.40 H 3.73 Cl 30.25 N 7.97

Für ein Verhältnis VII b/VIII b 83.1 : 16.9 ergibt sich:

Ber. C 37.17 H 3.12 Cl 42.65 N 6.29
Gef. C 36.84 3.04 41.95 6.04

Führt man die Umsetzung von Dichloral-(DL)serin mit mehr Benzylamin aus, so wird die Verbindung vom Schmp. 145-146° nicht mehr erhalten.

11.2 b im Molverhältnis 1 : 3 (IX b)

583.6 mg (1.6 mMol) Dichloral-(DL)serin, in 50 ccm abs. Äther gelöst, wurden mit 0.54 ccm (4.9 mMol) Benzylamin bei 40° unter Rühren versetzt und 2 Stdn. erwärmt. Nach 3 Stdn. begann die Abscheidung von Nadeln, die einen Tag später abgesaugt wurden. Das mit Äther gewaschene Rohprodukt (274 mg, 88% d.Th., ber. für Seryl-benzylamid) zeigte einen Roh-Schmp. von 89-90°.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol, Äthanol und Chloroform leicht, in Essigester mäßig und in Äther, Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Zur Analyse wurde aus Essigester/Petroläther umkristallisiert, wobei der Schmp. auf 90-91° stieg. Die Analyse b ist eine Wiederholungs-Analyse nach nochmaliger Umfällung. Die Zusammensetzung der Verbindung stimmte annähernd auf Seryl-benzylamid.

a) 4.038 mg Substanz, 9.260 mg CO_2 2.370 mg H_2O
4.186 mg Substanz, 0.532 ccm N_2 bei 25° und 735 Torr

b) 3.057 mg Substanz, 6.998 mg CO_2 1.800 mg H_2O

(IX b) $C_{10}H_{14}N_2O_2$ (194.2)

Ber.	C 61.83	H 7.27	N 14.42
Gef. a)	62.58	6.57	14.24
b)	62.47	6.59	

$C_{10}H_{12}N_2O_2$ (192.2)

Ber.	C 62.49	H 6.29	N 14.57

Die Umsetzungen von Dichloral-(DL)serin mit Benzylamin (11.2 a u. b) wurden später nicht wiederholt.

11.3 Umsetzungen mit Glycin-äthylester

11.3 a im Molverhältnis 1 : 3 (IX c)

1.16 g (3 mMol) Dichloral-(DL)serin wurden in 30 ccm abs. Äther gelöst und bei 40° unter Rühren mit 1 ccm (10 mMol) Glycin-äthylester innerhalb einer Stunde versetzt. Die Lösung trübte sich allmählich; nach etwa 3 Stdn. hatte sich ein Öl abgeschieden (Rührer und Heizung wurden nach 3.5 Stdn. abgestellt), das nach 17 Stdn. durchkristallisierte. Bei Zugabe von 30 ccm Petroläther schieden sich weitere Kristalle ab. Das Produkt wurde nach 3 Tagen abfiltriert und mit Petroläther gewaschen. Es wurden 604.6 mg (98% d. Th., ber. für Seryl-glycin-äthylester) Plättchen mit dem Roh-Schmp. 54° erhalten.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol, Äthanol und Chloroform leicht, in Essigester und heißem Äther mäßig und in kaltem Äther, Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Zur Analyse wurde aus Essigester/Petroläther umkristallisiert, wobei der Schmp. auf 61-62° stieg.

2.877 mg Substanz, 4.711 mg CO_2 1.720 mg H_2O
3.107 mg Substanz, 0.399 ccm N_2 bei 24° und 729 Torr

(IX c) $C_7H_{14}N_2O_4$ (190.2) Seryl-glycin-äthylester

Ber.	C 44.20	H 7.42	N 14.73
Gef.	44.68	6.69	14.16

$C_7H_{12}N_2O_4$ (188.2)

Ber.	C 44.68	H 6.43	N 14.89

Die Analyse konnte nicht wiederholt werden, da das Produkt in späteren Ansätzen nicht mehr erhalten wurde. Es wurde daher die obige Umsetzung in Gegenwart von verschiedenen Katalysatoren untersucht.

11.3b in Gegenwart von festem Kaliumhydroxyd (X a)

739 mg (2 mMol) Dichloral-(DL)serin (farblos; nach 4.1a dargestellt) wurden in 25 ccm abs. Äther gelöst und bei 40° innerhalb von 5 Min. mit einer Lösung von 0.6 ccm (6.2 mMol) frisch dest. Glycin-äthylester in 2.4 ccm abs. Äther versetzt. Nach 25 Min. war noch keine Trübung zu beobachten (in Parallelansätzen war festgestellt worden, daß keine Reaktion eingetreten war; es wurde das Ausgangsmaterial zurückisoliert).

Bei Zugabe von Ätzkali wurde die Lösung leicht bräunlich und trübte sich langsam. 15 Min. nach Zugabe der Kaliumhydroxyd-Pastille schied sich wenig klebrige Substanz ab. Nach insgesamt 4.5 Stdn. wurde das Ätzkali entfernt und das Reaktionsgemisch mit 30 ccm Petroläther versetzt. Es schied sich wenig Öl ab, das verworfen wurde. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert. Aus der Lösung schieden sich nach Zugabe von weiterem Petroläther bis zur Trübung 211 mg (30% d.Th., ber. auf X a) Nadeln vom Roh-Schmp. 138° ab. Beim Einengen der Mutterlauge wurde nur gelbes Öl erhalten.

Die Verbindung vom Schmp. 138° ist in Äthanol, Essigester, Chloroform, Tetrahydrofuran, Benzol, Dioxan, Dimethylformamid und Pyridin leicht, in heißem Wasser, Methanol, Äther und Toluol mäßig und in kaltem Wasser, Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Zur Analyse wurde wiederholt aus Essigester/Petroläther umgefällt, wobei der Schmp. auf 138.7-139° stieg.

2.880 mg Substanz, 3.680 mg CO_2 1.000 mg H_2O
2.917 mg Substanz, 0.206 ccm N_2 bei 23° und 720 Torr

(X a) $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (347.6)

Ber.	C 34.55	H 3.77	N 8.06
Gef.	34.87	3.88	7.71

Bei Umsetzung der Nadeln mit einer ätherischen Diazomethan-Lösung wurde das Ausgangsmaterial zurückerhalten.

In einem weiteren Ansatz wurde blaßgelbes, ohne Säurekatalyse nach 4.1 a hergestelltes, Dichloral-(DL)serin mit 4 Tage altem Glycin-äthylester innerhalb von 2 Min. unter den im vorstehenden Versuch beschriebenen Bedingungen zur Reaktion gebracht. Bereits nach 5 Min. trübte sich die Lösung und es schied sich eine klebrige Masse ab. Als jetzt Ätzkali zugesetzt wurde, war keine weitere Eintrübung zu beobachten. Nach 4.5 Stdn. wurde die Lösung eingeengt, der Rückstand in Essigester gelöst und die, von wenig Öl abgetrennte, Essigester-Lösung bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther versetzt. Aus der abdekantierten klaren Lösung wurden durch Zugabe von Petroläther 313.2 mg (44.3% d. Th., ber. auf X a) Nadeln mit dem Roh-Schmp. 132-133° erhalten. Beim Einengen der Mutterlauge schieden sich 166 mg (23.5% d. Th., ber. auf X b) Plättchen vom Roh-Schmp. 97° ab.

Der Schmp. der Nadeln stieg nach dem Umfällen aus Essigester/Petroläther auf 138-139°. Im Mischschmelzpunkt mit der nach 11.3 b, S. 54 hergestellten Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ zeigte sich keine Depression. - Die durch Umfällen aus Äther/Petroläther gereinigten Plättchen (Schmp. 98-99°) gaben keine Depression mit der nach 11.3 c S. 56 hergestellten Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom gleichen Schmelzpunkt.

Wir können nicht sagen, ob die im vorstehenden Versuch erhaltene bessere Ausbeute durch die Beschaffenheit der Ausgangsverbindungen bedingt war. Jedenfalls ließ sich die unter Ätzkali-Katalyse durchgeführte Reaktion in wiederholten Versuchen reproduzieren.

Als Dichloral-(DL)serin mit Glycin-äthylester im Molverhältnis 1 : 3 in ätherischer Lösung in Gegenwart von festem Natriumhydroxyd umgesetzt wurde, ließen sich nur Spuren der in Äther schwer löslichen Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ vom Schmp. 61-62° (vgl. 11.3 a) und eine sehr geringe Menge der, in Äther leicht löslichen, Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 98-99° (vgl. 11.3 c) isolieren. Beide Verbindungen wurden durch Mischschmelzpunkt identifiziert.

11.3 c in Gegenwart von α-Pyridon (X b)

1.48 g (4.1 mMol) Dichloral-(DL)serin (farblos; Schmp. 129°) wurden in 25 ccm Toluol gelöst und mit einer Lösung von 38.1 mg (0.4 mMol) α-Pyridon in 20 ccm Toluol versetzt. Zur 40° warmen Lösung

wurde innerhalb von 5 Min. die Lösung von 1.3 ccm (13 mMol) Glycin-äthylester in 8.7 ccm Toluol unter Rühren zugesetzt. Nachdem das Reaktionsgemisch 3 Tage auf etwa 40° gehalten worden war, wurden zur noch warmen Lösung 20 ccm Petroläther gegeben und von einer geringfügigen Abscheidung abfiltriert. Bei allmählicher Zugabe von etwa 130 ccm Petroläther schieden sich 868.8 mg Plättchen ab. Durch Einengen der Mutterlauge wurden weitere 72.2 mg erhalten. Der Roh-Schmp. lag bei 95-96°. Die Gesamtausbeute betrug 66% d. Th., ber. für X b.

Die Verbindung ist in heißem Wasser, Methanol, Äthanol, Äther, Tetrahydrofuran, Chloroform, Essigester, Dimethylformamid, Dioxan, Benzol, Toluol und Pyridin leicht, in kaltem Wasser mäßig und in Petroläther und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

In einem Versuch, die Plättchen mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan umzusetzen, wurde fast quantitativ das Ausgangsmaterial zurückerhalten.

Zur Analyse wurde wiederholt aus Äther/Petroläther umgefällt, wobei der Schmp. auf 98-99° stieg.

4.331 mg Substanz, 5.400 mg CO_2 1.620 mg H_2O
3.364 mg Substanz, 0.259 ccm N_2 bei 23° und 720 Torr

(X b) $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (347.6)

Ber.	C 34.55	H 3.77	N 8.06
Gef.	34.02	4.18	8.41

Die durch α-Pyridon katalysierte Reaktion war reproduzierbar.

Als die vorstehend beschriebene Umsetzung bei 50° mit Dichloral-(DL)serin durchgeführt wurde, das mit Aktivkohle gereinigt worden war, ließen sich nach 48 Stdn. 220 mg (31% d. Th.) der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (Roh-Schmp. 95°) isolieren.

Bei der Umsetzung von leicht gelb gefärbtem Dichloral-(DL)serin wurden in einem gleichen Ansatz - nach einer Reaktionszeit von 24 Stdn. bei 45° und 7 Tagen bei Raumtemperatur - 636.9 mg (90% d. Th.) der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (Roh-Schmp. 85°) isoliert.

In einem weiteren Ansatz wurden 4.0 mMol Dichloral-(DL)serin (Schmp. 107°), das 3 Monate alt war, mit 13 mMol Glycin-äthylester

und 0.61 mMol α-Pyridon umgesetzt. Nach einer Reaktionszeit von 45 Stdn. bei 50° und 5 Tagen bei Raumtemperatur, wurden 1.24 g (88% d. Th.) der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (Roh-Schmp. 92°) erhalten.

Die Reaktionsprodukte wurden - nach Reinigung - jeweils durch Mischschmelzpunkt mit der nach 11.3 c erhaltenen Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ identifiziert.

In einer Umsetzung von Dichloral-(DL)serin mit Glycin-äthylester (Molverhältnis 1 : 3) in Pyridin bei 40° wurde ein Substanz-Gemisch erhalten, aus dem sich bei der Aufarbeitung die Verbindungen IX c, X a und X b in sehr geringer Menge isolieren ließen.

11.4 Überführung der Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ vom Schmp. 61-62° (IX c) in Seryl-glycin-hydrochlorid

Um die, nach 11.3 a erhaltene, Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ zu identifizieren, wurde sie alkalisch verseift:

56 mg (0.3 mMol) der Verbindung IX c wurden mit 3 ccm (0.3 mMol) n/10 Natronlauge versetzt, wobei sich die Verbindung unter schwacher Gelbfärbung löste. Nach 20 Min. wurden 3 ccm (0.3 mMol) n/10 Salzsäure zugesetzt und die Lösung im Vakuum bis auf 1.5 ccm eingeengt. Bei Zugabe von Äthanol wurden 31.3 mg (53.5% d. Th.) einer bei 155° sich zersetzenden feinkörnigen Verbindung erhalten, die im Mischschmelzpunkt (allerdings unter Zersetzung) keine Depression mit Seryl-glycin-hydrochlorid (Zers. P. 155°) gab.

Das IR-Spektrum der Verbindung vom Zers. P. 155° stimmte mit dem von Seryl-glycin-hydrochlorid überein. Bei der Papierchromatographie (vgl. S. 39) zeigte die Verbindung vom Zers. P. 155° - ebenso, wie ein mitlaufendes, authentisches Vergleichspräparat von Seryl-glycin-hydrochlorid - einen Rf-Wert von $5.27 \cdot 10^{-2}$; daneben fand sich eine geringe Verunreinigung (Rf-Wert $3.62 \cdot 10^{-2}$).

Um zu prüfen, ob die Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ durch Säuren verändert werde, haben wir folgenden Versuch ausgeführt:

346.7 mg (1.8 mMol) der nach 11.3 a hergestellten Verbindung $C_7H_{14}N_2O_4$ vom Schmp. 61-62° wurden in 9 ccm (3.2 mMol) n/2 alkoholischer Salzsäure gelöst. Nach einer Stunde wurden 5 ccm abs. Äther

zugesetzt. Bei der Aufarbeitung nach 2 Tagen (vgl. 8.3, S. 39) ließen sich 323.7 mg (90% d.Th.) lanzettartiger, flacher Nadeln mit dem Roh-Schmp. 165-170° isolieren.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol und Äthanol leicht und in Äther, Petroläther, Essigester, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Zur Analyse wurde aus Äthanol/Chloroform umgefällt, wobei der Schmp. auf 174-175° stieg. Die Analysenwerte der Verbindung unterschieden sich erheblich von den für Seryl-glycin-äthylester-hydrochlorid berechneten. Da es nicht mehr gelang die Ausgangsverbindung IX c herzustellen, konnte die Analyse nicht wiederholt werden.

3.358 mg Substanz, 4.476 mg CO_2 2.090 mg H_2O
4.092 mg Substanz, 0.519 ccm N_2 bei 23° und 721 Torr

$C_7H_{15}ClN_2O_4$ (226.7) Seryl-glycin-äthylester-hydrochlorid

Ber. C 37.09 H 6.67 N 12.36
Gef. 36.37 6.96 13.88

Nachdem das Chlorhydrat vom Schmp. 174-175° bei 0° mit Ammoniak behandelt worden war, wurde wenig Ausgangsmaterial zurückerhalten (IX c, Schmp. 61-62°), das durch Mischschmelzpunkt identifiziert wurde. Daneben hatte sich ein hochschmelzendes Produkt vom Zers.P. 230-240° gebildet.

11.5 Überführung der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 98-99° (X b) in Seryl-glycin-hydrochlorid

78.8 mg (0.23 mMol) der nach 11.3 c erhaltenen Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (Schmp. 98-99°) wurden in 4 ccm 96proz. Äthanol gelöst und mit 0.7 ccm (0.9 mMol) 2n alkoholischer Salzsäure versetzt. Nach 15 Stdn. wurden etwa 17 ccm abs. Äther (bis zur bleibenden Trübung) zugesetzt. Weitere 25 Stdn. später hatte sich ein öliges Produkt abgeschieden. Die Lösung wurde vollständig eingeengt und der Rückstand mit wenig abs. Äther durchgerieben. Nach 24 Stdn. hatte sich eine geringe Menge von Kristallen abgeschieden, die nach Verreiben mit Chloroform abgetrennt wurden. Es ließen sich 41.8 mg feiner Nädelchen mit dem Roh-Schmp. 135-136° isolieren.

Zur Reinigung wurden die Nädelchen in Äthanol gelöst und von einer geringen Menge eines schwer löslichen Produktes abgetrennt. Bei langsamer Zugabe von Chloroform und Petroläther zur äthanolischen Lösung kristallisierten Nädelchen vom Schmp. 138-139° aus (vgl. S. 60).

2.093 mg Substanz, 0.264 ccm N_2 bei 24° und 714 Torr

$C_5H_{11}ClN_2O_4$ (198.6) Seryl-glycin-hydrochlorid

Ber. N 14.11
Gef. 13.62

Im Chromatogramm der Verbindung vom Schmp. 138-139° waren keine Verunreinigungen zu erkennen. Der Rf-Wert ($5.1 \cdot 10^{-2}$) war der gleiche, wie der von Seryl-glycin-hydrochlorid.

Der vorstehend beschriebene Versuch ist aus einer größeren Zahl von Versuchen einer der wenigen, der zu einem kristallinen Produkt führte. In verschiedenen Ansätzen wurden die Verseifungsbedingungen (Konzentration der Säure, Lösungsmittel, Zeitdauer) variiert. Es ließen sich aber immer nur geringe Mengen eines kristallinen Produktes im Schmelzpunkts-Bereich 135-175° isolieren; der größte Teil der Verseifungsprodukte war ölig. Das Öl war in Wasser, Methanol, Äthanol, Isopropanol und Dimethylformamid leicht, in Tetrahydrofuran, Chloroform, Toluol, Dioxan und Aceton mäßig und in Äther, Petroläther, Essigester, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol schwer löslich.

Bei sehr langer Verseifungsdauer wurde Glycin-äthylester-hydrochlorid erhalten (durch Mischschmelzpunkt und IR-Spektrum identifiziert), so daß unter diesen Bedingungen die Peptidbindung gespalten wurde.

Wenn die Verseifung mit einem großen Überschuß an 2n alkoh. Salzsäure (1 : 20) bei kurzer Reaktionszeit (2 Stdn.) vorgenommen wurde, so schieden sich aus dem erhaltenen Öl erst nach etwa 7 Wochen sehr wenig lanzettartige, flache Nadeln vom Roh-Schmp. 167-168° ab. Beim Mischschmelzpunkt mit der nach 11.6, Seite 62 erhaltenen Verbindung vom Schmp. 162-164° zeigte sich keine Depression. Das IR-Spektrum stimmte mit dem von Seryl-glycin-hydrochlorid überein.

Da bei der sauren Verseifung offenbar zum Teil auch die Estergruppe verseift worden war, wurde versucht, die Reaktion durch alkalische Verseifung zu vervollständigen:

398.9 mg (1.76 mMol, ber. für Dipeptid-ester-hydrochlorid) des nach 11.5 erhaltenen und durch wiederholtes Umfällen gereinigten Öls wurden mit 34 ccm (3.4 mMol) n/10 Natronlauge versetzt. Die blaßgelbe Lösung wurde von sehr wenig gelbbrauner Verunreinigung abfiltriert, nach einer Stunde mit 34 ccm (3.4 mMol) n/10 Salzsäure versetzt und im Vakuum eingeengt. Der zäh-viskose Rückstand wurde mit abs. Äthanol durchgerieben und die Lösung von 187.7 mg (theor. 198.6 mg) Natriumchlorid abfiltriert. Bei Zugabe von etwas abs. Äther kristallisierten 270.1 mg eines feinkörnigen Produktes vom Roh-Schmp. 162-164° aus.

Zur Reinigung wurde die Verbindung in Methanol gelöst, von 48.3 mg Schwerlöslichem abfiltriert, und das Filtrat langsam mit abs. Äther versetzt, wobei sich ein öliges, mit wenig Kristallen durchsetztes Produkt abschied. Dieses kristallisierte aus Isopropanol nach 14 Tagen teilweise. Der Zers.P. lag nunmehr bei 167-168°.

Die Verbindung ist in Wasser, Methanol und Dimethylformamid leicht, in Äthanol, Isopropanol, Chloroform und Dioxan mäßig und in Äther, Petroläther, Essigester, Methylenchlorid und Tetrachlorkohlenstoff schwer löslich.

Im Papierchromatogramm (vgl. S. 40) zeigte die Verbindung vom Zers.P. 167-168° (neben zwei schwach angefärbten Flecken; Rf-Werte 9.4 und $75.3 \cdot 10^{-2}$) den gleichen Rf-Wert, wie das nach 11.6 erhaltene Seryl-glycin-hydrochlorid, sowie das Hydrochlorid, das aus einem von Herrn Dr. E. WÜNSCH erhaltenen Seryl-glycin-Präparat hergestellt worden war (vgl. S. 12).- Auch die IR-Spektren dieser drei Verbindungen stimmten überein.

Die Zers.P. des auf verschiedenen Wegen erhaltenen Seryl-glycin-hydrochlorids stimmten nicht überein. Das nach 11.5 erhaltene Seryl-glycin-hydrochlorid zersetzte sich bei 138-139° bzw. 167-168° und das nach 11.6 erhaltene bei 154-155° bzw. 162-164°. Ein aus dem Präparat von Herrn Dr. E. WÜNSCH dargestelltes Seryl-glycin-hydrochlorid zersetzte sich bei 155°.

11.6 Überführung der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 138-139° (X a) in Seryl-glycin-hydrochlorid

40 mg (0.11 mMol) der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ (Schmp. 138-139°; nach 11.3 b, S. 54 erhalten) wurden in 5 ccm Chloroform gelöst und mit 0.1 ccm (0.2 mMol) 2n alkohol. Salzsäure versetzt. Nach 3 Tagen wurden 5 ccm Toluol zugesetzt, wobei sich nur eine schwache Trübung zeigte. Die Lösungsmittel wurden im Vakuum abdestilliert und der ölige Rückstand in abs. Äther aufgenommen. Bei Zugabe von Petroläther schied sich ein öliges, mit sehr wenig Kristallen durchsetztes Produkt ab. Dieses wurde mit Äthanol behandelt, wobei das Öl leichter in Lösung ging. Bei Zugabe von Essigester zur äthanolischen Lösung fielen 21 mg einer feinkristallinen Verbindung mit dem Roh-Schmp. 155° (Zers.; Seryl-glycin-hydrochlorid) aus. Durch wiederholtes Umfällen aus Äthanol/Essigester/Petroläther wurden wenig Nädelchen vom Zers. P. 164° erhalten. Der Mischschmp. mit der nach 11.6 (alkal. Vers.) erhaltenen, gleichschmelzenden Verbindung zeigte keine Depression.

In einem Vorversuch wurde die Verseifung der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 138-139° mit einem großen Überschuß (1 : 20) an 2n alkohol. Salzsäure in 24 Stdn. durchgeführt. Es wurden wieder die Nädelchen vom Schmp. 168-169° erhalten. Wahrscheinlich sind diese Versuchsbedingungen günstiger.

Weiterhin wurde untersucht, ob das bei der sauren Verseifung der Verbindung $C_{10}H_{13}Cl_3N_2O_5$ vom Schmp. 138-139° erhaltene ölige Produkt durch alkalische Verseifung in Seryl-glycin zu überführen sei:

80.2 mg (0.35 mMol, ber. auf Seryl-glycin-äthylester-hydrochlorid) des vorstehend beschriebenen und mit Lösungsmitteln gereinigten Öls (vgl. 11.5) wurden, wie auf S. 60 beschrieben, verseift. Die Lösung hatte nach Zugabe der Salzsäure pH 4; sie wurde von einigen Flocken abfiltriert und im Vakuum auf 2 ccm eingeengt. Es wurde wenig abs. Äthanol (schwache Trübung) und 3 ccm abs. Äther zugesetzt, wobei 39.0 mg (theor. 39.5 mg) Natriumchlorid ausfielen. Aus der abgetrennten und im Exsiccator eingeengten Mutterlauge fielen 74.7 mg feinkristallines Produkt vom Roh-Schmp. 145-152° aus.

Die Löslichkeiten der Verbindung stimmten mit den auf S. 60 beschriebenen überein.

Zur Reinigung wurde das Produkt vom Schmp. 145-152° wiederholt in heißem Äthanol gelöst und mit abs. Äther fraktioniert gefällt. Aus den schwerer löslichen Anteilen ließ sich eine Fraktion vom Schmp. 162-164° gewinnen. Die leichter löslichen Anteile ließen sich nur bis zum Schmp. 154-155° reinigen. Die IR-Spektren beider Fraktionen stimmten mit dem von Seryl-glycin-hydrochlorid überein. Das Chromatogramm dieser Verbindung zeigte denselben Rf-Wert, wie das aus dem Präparat von Herrn Dr. E. WÜNSCH dargestellte Seryl-glycin-hydrochlorid.

3.367 mg Substanz, 3.660 mg CO_2 1.660 mg H_2O
2.141 mg Substanz, 0.253 ccm N_2 bei 26° und 713 Torr

$C_5H_{11}ClN_2O_4$ (198.6) Seryl-glycin-hydrochlorid

Ber.	C 30.23	H 5.58	N 14.11
Gef.	29.66	5.52	12.66

Literaturverzeichnis

1)	HEISS, R.	Univ. München, Dissertation (1957)
2)	BERGMANN, M.	Ber. dtsch. chem. Ges. 58, 1034 (1925)
3)	WALLACH, O.	Liebigs Ann. Chem. 173, 274 (1874)
4)	EIBNER, A.	ebenda, 302, 362 (1898)
5)	DIMROTH, O., ZOEPPRITZ, R.	Ber. dtsch. chem. Ges. 35, 984 (1902)
6)	GÄRTNER, S.	Liebigs Ann. Chem. 332, 226 (1904)
7)	GÄRTNER, S.	ebenda, 336, 229 (1904)
8)	RÜGHEIMER, L.	Ber. dtsch. chem. Ges. 39, 1653 (1906)
9)	LEUCHS, H., W. MANASSE	ebenda, 40, 3235 (1907)
10)	LEUCHS, H.	ebenda, 39, 857 (1906)
11)	BERGMANN, M., L. ZERVAS	ebenda, 65, 1192 (1932)
12)	BERGMANN, M., L. ZERVAS W. F. ROSS	J. biol. Chemistry 111, 245 (1935)
13)	KATCHALSKI, E., P. SPITNIK	J. Amer. Chem. Soc. 73, 2946 (1951)
14)	FRANKEL, M., M. HALMANN	J. Chem. Soc. (London) 1952, 2735
15)	ERLANGER, B. F., E. BRAND	J. Amer. Chem. Soc. 73, 4025 (1951)
16)	BAILEY, J. L.	J. Chem. Soc. (London) 1950, 3461
17)	HANBY, W. E., S. G. WALEY, J. WATSON	ebenda, 1950, 3239
18)	BEN-ISHAI, D., E. KATCHALSKI	J. Amer. Chem. Soc. 74, 3688 (1952)
19)	FUCHS, F.	Ber. dtsch. chem. Ges. 55, 2943 (1922)
20)	BROWN, C. J., FARTHING, A. C., D. COLEMAN	Nature (London) 163, 834 (1949)
21)	LEVY, A. L.	ebenda, 165, 152 (1950)
22)	FARTHING, A. C., R. J. W. REYNOLDS	ebenda, 165, 647 (1950)
23)	FARTHING, A. C.	J. Chem. Soc. (London) 1950, 3213
24)	COLEMAN, D., FARTHING A. C.	ebenda, 1950, 3218
25)	COLEMAN, D.	ebenda, 1950, 3222
26)	CURTIUS, Th., W. SIEBER	Ber. dtsch. chem. Ges. 55, 1543 (1922)
27)	HURD, C. D., C. M. BUESS	J. Amer. Chem. Soc. 73, 2409 (1951)
28)	HUNT, M., V. DU VIGNEAUD	J. biol. Chemistry 124, 699 (1938)
29)	BAILEY, J. L.	Nature (London) 164, 889 (1949)
30)	COOK, A. H., S. I. HEILBRON, A. L. LEVY	J. Chem. Soc. (London) 1942, 1598
31)	wie oben	ebenda, 1948, 201

32) FISCHER, E.	Liebigs Ann. Chem. 190, 114 (1877)
33) HOFMANN, A.W.	Ber. dtsch. chem. Ges. 13, 1732 (1880)
34) COOK, A.H., S.I. HEILBRON, A.L. LEVY	J. Chem. Soc. (London) 1950, 642
35) COOK, A.H., A.L. LEVY	ebenda, 1950, 651
36) DAVIS, A.C., A.L. LEVY	ebenda, 1951, 2419
37) MOHR, E., Th. GEIS	Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 798 (1908)
38) MOHR, E., F. STROSCHEIN	ebenda, 42, 2521 (1909)
39) MOHR, E., Th. GEIS	J. prakt. Chem. 81, 49 (1910)
40) MOHR, E.	ebenda, 81, 487 (1910)
41) KARRER, P., G. BUSSMANN	Helv. chim. Acta 24, 645 (1941)
42) O'BRIEN, J.L., C. NIEMANN	J. Amer. Chem. Soc. 72, 5348 (1950)
43) WIELAND, Th.	Angew. Chem. 63, 7 (1951)
44) LETTRE, H., M.E. FERNHOLZ	Hoppe-Seylers Z. physiol. Chemie 266, 37 (1940)
45) BERGMANN, M., F. STERN Ch. WITTE	Liebigs Ann. Chem. 449, 277 (1926)
46) ERLENMEYER, E. jun., E. FRÜHSTÜCK	ebenda, 284, 36 (1895)
47) WEYGAND, Fr., E. LEISING	Chem. Ber. 87, 248 (1954)
48) WEYGAND, Fr., M. REIHER	Chem. Ber. 88, 26 (1955)
49) WEYGAND, Fr., R. GEIGER	ebenda, 90, 634 (1957)
50) WEYGAND, Fr., W. SWODENK	ebenda, 90, 639 (1957)
51) WEYGAND, Fr., P. KLINKE, I. EIGEN	ebenda, 90, 1896 (1957)
52) WEYGAND, Fr., H.J. BESTMANN, E. KLIEGER	ebenda, 91, 1037 (1958)
53) WEYGAND, Fr., W. STEGLICH	ebenda, 92, 313 (1959)
54) WEYGAND, Fr., H. RINNO	ebenda, 92, 517 (1959)
55) MICHEEL, Fr., S. THOMAS	ebenda, 90, 2906 (1957)
56) MICHEEL, Fr., H. HANEKE	ebenda, 92, 309 (1959)
57) MICHEEL, Fr., W. MECKSTROTH	ebenda, 92, 1675 (1959)
58) SWAN, J.M., V. DU VIGNEAUD	J. Amer. Chem. Soc. 76, 3110 (1954)
59) WIELAND Th., E.Fr. MÖLLER	Chem. Ber. 81, 316 (1948)
60) WIELAND, Th.	ebenda, 81, 323 (1948)
61) LIEBIG, J. von	Liebigs Ann. Pharm. 1, 182 (1832)

62) MASSON, I.	J. Chem. Soc. (London) 97, 866 (1910)
63) HENNE, A.L., M.S.NEWMAN, L.L.QUILL, R.A.STANIFORTH	J. Amer. Chem. Soc. 69, 1819 (1947)
64) OGDEN, R.P., Th.G.KANE	ebenda, 76, 300 (1954)
65) BRAID, M., H.ISERSON, Fr.E.LAWLOR	ebenda, 76, 4027 (1954)
66) HUSTED, D.R., A.H.AHLBRECHT	ebenda, 74, 5422 (1952)
67) FISCHER, E., E.FOURNEAU	Ber. dtsch. chem. Ges. 34, 2868 (1901)
68) ZERVAS, L., D.M. THEODOROPOULOS	J. Amer. Chem. Soc. 78, 1359 (1956)
69) KOLLONITSCH, J., V.GABOR, A.HAJOS	C. 1957, 8768
70) FISCHER, E.	Ber. dtsch. chem. Ges. 36, 2984 (1903)
71) STROBEL, R.	Univ. München, Dissertation (1957)
72) FISCHER, E., O.WARBURG	Liebigs Ann. Chem. 340, 166 (1905)
73) FISCHER, E.,	Ber. dtsch. chem. Ges. 38/3, 2922 (1905)
74) FISCHER, E.	Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 852 (1908)
75) ERLANGER, B.F., E.BRAND	J. Amer. Chem. Soc. 73, 3508 (1951)
76) GRASSMANN, W., E.WÜNSCH	Chem. Ber. 91, 449 (1958)
77) BERGMANN, M., L.ZERVAS	Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 175, 154 (1928)

Lebenslauf

Am 16. August 1926 wurde ich als Sohn des Technikers Andreas Schäfer und seiner Ehefrau Brunhilde, geb. Karl, in Kempten/Allg. geboren.

Von März 1933 bis März 1937 besuchte ich die Volksschulen in Kempten, Lagerlechfeld b. Augsburg und Königsbrück b. Dresden und anschliessend die Oberrealschule in Kempten und die Luitpold-Oberschule in München. 1944 wurde ich als O. B. der Luftwaffe nach Rahmel/Westpreußen eingezogen. Nach zweimaliger Verwundung im Osten kam ich nach Deutschland zurück und wurde im Juni 1945 in Biessenhofen b. Kaufbeuren aus der Wehrmacht entlassen.

Nach kurzer philatelistischer Tätigkeit bereitete ich mich auf die Reifeprüfung vor, die ich im Juni 1947 an der Oberschule in Kempten ablegte.

Von März 1948 bis April 1949 war ich als Chemie-Werker bei der Lechchemie in Gersthofen b. Augsburg tätig.

Im Sommer-Semester 1949 immatrikulierte ich mich an der phil. theol. Hochschule Regensburg für das Studienfach Chemie. 1951 wurde ich an der Universität in München zugelassen. Die Diplomchemiker-Vorprüfung legte ich im Juli 1951 ab. Auf Grund eines schweren Verkehrsunfalls im Juli 1953 mußte ich mein Studium fast drei Jahre lang unterbrechen. Im Februar 1957 legte ich die Diplom-Hauptprüfung ab. Von März 1957 bis Dezember 1960 führte ich unter Anleitung von Frau Prof. Dr. E. Dane vorliegende Doktorarbeit aus.